スプラウト玄米の栽培条件の検討 および食品としての機能的特性の解明

2021 年 4 月 助川 宏子

スプラウト玄米の栽培条件の検討 および食品としての機能的特性の解明

筑波大学大学院 生命環境科学研究科 国際地縁技術開発科学専攻 博士(農学)学位論文

助川宏子

目次

図・表・写真一覧	
論文概要	1
第1章 序論	3
第 2 章 発芽率を考慮した玄米種子の洗浄および発芽処理方法の検討	7
2.1 序	7
2.2 材料および方法	8
2.2.1 玄米	8
2.2.2 洗浄水および栽培水	8
2.2.3 玄米種子の洗浄方法	8
2.2.4 発芽方法	8
2.2.5 発芽率と生菌数の測定	9
2.2.6 統計処理	9
2.3 結果	9
2.3.1 洗浄方法の違いによる生菌数	9
2.3.2 発芽処理時の水質と温度による発芽への影響	1 0
2.4 考察	1 0
2.5 結論	1 0
第3章 スプラウト玄米の水耕栽培のための培地および栽培水の選択	1 3
3.1 序	1 3
3.2 材料および方法	1 3
3.2.1 培地	1 3
3.2.3 栽培条件	1 4
3.2.4 スプラウト玄米の形態および乾燥重量の測定方法	1 4

	3.2.5	アミノ酸分析用のサンプルの調整方法	1	4	
	3.2.6	玄米およびスプラウト玄米のアミノ酸含有量の決定	1	5	
	3.2.7	スプラウト玄米中のアミノ酸の機能性分類方法	1	5	
	3.2.8	統計処理	1	6	
	3.3	結果	1	6	
	3.3.1	スプラウト玄米の形態に及ぼす培地および水質の影響	1	6	
	3.3.2	スプラウト玄米中のアミノ酸含有量に及ぼす培地および水質の影響	1	7	
	3.4	考察	1	7	
	3.4.1	スプラウト玄米の形態に及ぼす培地および水質の影響	1	7	
	3.4.2	スプラウト玄米中のアミノ酸含有量に及ぼす培地および水質の影響	1	8	
	3.5	結論	1	9	
筆	〔4章	スプラウト玄米の最適栽培水の検討		2	5
- 1\				_	Ī
	4.1	序	2	5	
	4.2	材料と方法	2	5	
	4.2.1	スプラウト玄米の栽培方法	2	5	
	4.2.3	アミノ酸分析用のサンプルの調整方法	2	6	
	4.2.4	スプラウト玄米のアミノ酸含有量の決定	2	6	
	4.2.5	スプラウト玄米中のアミノ酸の機能性の分類方法	2	6	
	4.2.6	統計処理	2	6	
	4.3	結果	2	6	
	4.4	考察	2	7	
	4.5	結論	2	7	
第	5 章	スプラウト玄米の栽培期間の選定		. 3	0
•					-
	5.1	序	3	0	
	5.2	材料および方法	3	0	
	5.2.1	スプラウト玄米の栽培方法	3	0	
	5.2.2	評価地点の設定	3	1	
	5.2.3	スプラウト玄米の形態および乾燥重量の測定方法	3	1	
	5.2.4	アミノ酸分析用のサンプルの調整方法	3	1	

	5.2.5 スプラウト玄米のアミノ酸含有量の決定		3	1
	5.2.6 スプラウト玄米中のアミノ酸の機能性の分類方法		3	1
	5.2.7 統計処理		3	1
	5.4 考察		3	2
	5.5 結論		3	3
第	6章 スプラウト玄米の栽培条件の最適化		•••	4 2
	6.1 序	'	4	2
	6.2 材料と方法	'	4	3
	6.2.1 洗浄および栽培水に用いる微酸性電解水	'	4	3
	6.2.2 栽培容器	'	4	3
	6.2.3 スプラウト玄米の栽培方法	'	4	3
	6.2.4 発芽率の決定方法	'	4	3
	6.2.5 スプラウト玄米の形態および乾燥重量の測定方法	'	4	4
	6.2.6 アミノ酸分析用のサンプルの調整方法	'	4	4
	6.2.7 スプラウト玄米のアミノ酸含有量の決定	'	4	4
	6.2.8 スプラウト玄米中のアミノ酸の機能性の分類方法	'	4	4
	6.2.9 有害菌の調査方法	'	4	5
	6.2.10 統計処理	'	4	5
	6.3 結果	'	4	5
	6.3.1 発芽率およびスプラウト玄米の形態に及ぼす容器と微酸性電解水の有効塩素濃度の	影響	4	5
	6.3.2 スプラウト玄米中のアミノ酸含有量に及ぼす容器と微酸性電解水の有効塩素濃度の	影響	4	5
	6.3.3 栽培条件が及ぼすスプラウト玄米上の有害菌への影響	'	4	6
	6.4.1 発芽率およびスプラウト玄米の形態に及ぼす容器と微酸性電解水の有効塩素濃度の	影響	4	7
	6.4.2 スプラウト玄米中のアミノ酸含有量に及ぼす容器と微酸性電解水の有効塩素濃度の	影響	4	8
	6.4.3 栽培条件が及ぼすスプラウト玄米上の有害菌への影響	'	4	9
	6.5 結論	'	4	9
第	7 章 総合考察		•••	6 1
	7.1 本研究のまとめ		6	1
	7.2 大巫空の社会への影響と登屋		_	2

計 我	辛	7	7
引用之	文献・参考文献	6	7
7.3	今後の展望6	4	

図・表・写真一覧

図	2-1.	種子洗浄後の生菌数	11
図	2-2.	異なる水質が種子洗浄と発芽率に及ぼす影響	12
図	3-1.	異なる培地で栽培したスプラウト玄米のアミノ酸含有量(蒸留水)	23
図	3-2.	異なる培地で栽培したスプラウト玄米のアミノ酸含有量(微酸性電解水)	24
図	4-1.	スプラウト玄米のアミノ酸含有量に及ぼす栽培水の影響	29
図	5-1.	発芽ステージにおけるスプラウト玄米のアミノ酸含有量	36
図	5-2.	発芽ステージにおける1次機能アミノ酸含有量の変化	37
図	5-3.	発芽ステージにおける2次機能アミノ酸含有量の変化	38
図	5-4.	発芽ステージにおける3次機能アミノ酸含有量の変化	39
図	5-5.	発芽ステージにおけるフェノール類含有量の変化	40
図	6-1.	異なる栽培容器と有効塩素濃度が及ぼすスプラウト玄米の発芽率への影響	51
図	6-2.	異なる栽培容器と有効塩素濃度が及ぼすスプラウト玄米の形態への影響	52
図	6-3.	異なる栽培容器と有効塩素濃度で栽培したスプラウト玄米のアミノ酸含有量	54
図	6-4.	異なる栽培容器と有効塩素濃度で栽培したスプラウト玄米の1次機能アミノ酸含有量	55
図	6-5.	異なる栽培容器と有効塩素濃度で栽培したスプラウト玄米の2次機能アミノ酸含有量	56
図	6-6.	異なる栽培容器と有効塩素濃度で栽培したスプラウト玄米の3次機能アミノ酸含有量	57
図	6-7.	異なる栽培容器と有効塩素濃度で栽培したスプラウト玄米のフェノール類含有量	58
図	6-8.	生鮮スプラウト玄米と洗浄後のスプラウト玄米上の生菌数	59
表	3-1.	スプラウト玄米の形態に及ぼす培地および水質の影響	20
表	3-2.	異なる培地で栽培したスプラウト玄米のアミノ酸含有量(蒸留水)	22
表	3-3.	異なる培地で栽培したスプラウト玄米のアミノ酸含有量(微酸性電解水)	22
表	4-1.	異なる水質で栽培したスプラウト玄米のアミノ酸含有量	28
表	5-1.	スプラウト玄米の生長段階におけるアミノ酸含有量	35
表	6-1.	異なる栽培容器と有効塩素濃度が及ぼすスプラウト玄米の発芽率および形態への影響	50
表	6-2.	異なる栽培容器と有効塩素濃度で栽培したスプラウト玄米のアミノ酸含有量	53
写	真 3-	1. 各培地と生長したスプラウト玄米	21

写真	5-1.	スプラウト玄米の発芽ステージ分類	34
写真	6-1.	栽培用容器	49
写真	7-1.	生鮮スプラウト玄米 (GABA 含有量 約 10 mg 相当 (推定値))	65

略語表

ACC: available chlorine concentration, ACC

ClO⁻: hypochlorite ion 次亜塩素イオン

DW, D: distilled water, 蒸留水

GABA: γ -aminobutryic acid, γ -アミノ酪酸

GBD: Global Burden of. Diseases, Injuries, and Risk Factors Study, 世界の疾病負担研究

HClO: hypochlorous acid, 分子状次亜塩素酸

SAEW, S: slightly acidic electrolyzed water, 微酸性電解水

dw:dry weight, 凍結乾燥重量

fw:fresh weight, 生鮮重量

スプラウト玄米の栽培条件の検討および食品としての機能的特性の解明

生命環境科学研究科 国際地縁技術開発科学専攻 氏名:助川 宏子(学籍番号:201830230)

論文概要

世界のヒトの死亡原因を調査する最も権威のある 195 カ国を対象とした世界疾病負担研究の最新報告によると、世界中の 5 人に一人は不健康な食生活が原因で寿命が短縮し、死亡しており、食要因の第 1 位は全粒穀物摂取量の少なさであった。その解決のためには、食品の生産~流通~消費を一連とした改善が急務であると警告している。

そこで、生活習慣病に有効な γ -アミノ酪酸(GABA)をはじめとする機能性成分を含む全粒穀物である発芽玄米および化学予防作用が明らかとなっているスプラウトに着目し、これらの特性を併せ持つ、スプラウト玄米を開発することを目的に本研究を行った。

はじめに著者は、第1章で世界的に問題となっている生活習慣病に関連する食生活の状況と発 芽玄米やスプラウト類の生活習慣病に対する有効性について整理した。さらに、本研究で目的と した種子ごと可食するスプラウト玄米を栽培するための栽培方法の特徴を述べた。

続いて著者は第2章で、通常、種籾を発芽させる際の第1段階で行う薬剤や温湯による種子の 洗浄方法の事例を参考にし、発芽率と食品の安全性を考慮した種子の洗浄方法について述べた。 洗浄時の水温 (20℃と 50℃) と洗浄・発芽時に用いる水質 (蒸留水と微酸性電解水) を組み合 わせた8通りで検討した結果、種子洗浄および発芽水として、20℃の微酸性電解水を使用した場 合、発芽率が最も高くなることを明らかにした。

第3章では、スプラウト玄米を栽培するための培地(水、ウレタン、パルプ、もみ殻、もみ殻 燻炭)の特徴と、微酸性電解水と蒸留水を用いて各培地で8日間栽培したスプラウト玄米の形態 的な特徴について述べた。また、生長したスプラウト玄米に含有するアミノ酸量を調査し、それ らを食品の機能性ごとに分類した結果、スプラウト玄米中の機能性を高める最適な培地は、水で あることを明らかにした。

第4章では、スプラウト玄米を栽培するために最適な栽培水(蒸留水、微酸性電解水)を選択するための実験を行った。その結果、微酸性電解水(有効塩素濃度 30.0 ± 6.0 ppm、pH 6.00 ± 0.20)を培地とし、米粒と芽が嫌気的な状態になるよう水中に浸し続けることで、自己消化して

いない無根の種子を持ったスプラウ玄米の栽培が可能であることを明らかにした。また、従来の研究結果(144時間)よりも長い期間(456時)にわたり観察し、アミノ酸含有量を調査した。

第5章では、最適なスプラウト玄米の形態を検討するため、発芽ステージごとに含有しているアミノ酸量を調査した結果、スプラウト玄米中の食品の機能性ごとに分類した全てのアミノ酸量は、未処理の玄米よりも高まる傾向を示した。その中でも、栄養の指標となる一次機能、食品のおいしさに関わる二次機能、総アミノ酸量は、芽が 40~70 mm に生長した時点で、抗酸化作用に関連するポリフェノール関連のアミノ酸量は、芽が 20~30 mm に生長した時点で、それぞれ最大値を示し、未処理の玄米に対して有意に高かった。

以上により、消費に最も適したスプラウト玄米の形態は、無根米粒と第一葉(子葉鞘)をもつ 乳苗で、芽が 20~70 mm に伸長した段階であることが明らかとなった。また、本研究により、 品種「ふくまる」玄米は、コシヒカリ玄米よりも GABA 含有量が高いことが明らかになった。

第6章では、スプラウト玄米の機能性や収量を向上させるための検討を行った。その結果、玄米や芽の干渉を防ぐ栽培容器を用いて玄米を播種した場合、第2章の結果より発芽率が向上することがわかった。また、栽培に使用する微酸性電解水の有効塩素濃度は、30 ppm より 40 ppm のほうが、スプラウト玄米中のアミノ酸含有量を高める傾向を示し、いずれの有効塩素濃度においても、乾物重量当たりのアミノ酸含有量は、米より伸長する芽の部分で有意に高まることが明らかとなった。さらに、有効塩素濃度 30 ppm で栽培したスプラウト玄米を水道水で洗浄した場合、スプラウト玄米上の大腸菌群、大腸菌、芽胞菌は未検出であり、一般生菌数は、惣菜中の生野菜の衛生学的指標である一般生菌数 6.0 log cfu/g 以下であったことから、スプラウト玄米は、一般的なスプラウト類と同様に生食が可能である。よって、有効塩素濃度 30~40 ppm の微酸性電解水を用いて、発芽玄米の芽をさらにスプラウト化させたスプラウト玄米は、発芽玄米よりも簡単な調理で、機能性成分を効率よく摂取できる食品であると判明した。

第7章では、本研究により開発に至ったスプラウト玄米の栽培条件、形態および食品としての機能性の特徴についてまとめた。また、本研究が世界的に問題となっている生活習慣病、日本のコメの消費率向上および災害時に貢献できる可能性、さらに、商業的な生産における技術面での課題や消費者へのアプローチ方法を述べた。

以上総括すると、本研究において著者は、玄米および発芽玄米に比べ、非常に短時間かつ簡単な調理で済むスプラウト玄米を開発し、簡易的な最適栽培条件と形態および含有するアミノ酸量を食品の機能性に分類して確認した。その結果、全粒穀物の摂取と食品の機能性を通じて、健康維持に貢献する可能性が高い、新しい玄米の摂取方法を提供するとともに、スプラウト玄米を栽培するための基礎的な条件を明らかにした。

第1章 序論

生活習慣病は、先進国だけでなく発展途上国を含む全世界で増加し続けている。生活習慣病とは、食習慣、運動習慣、休養のとり方、嗜好(飲酒や喫煙)などの生活習慣がかかわる要素が強い病気をまとめて言い表した総称である。生活習慣病は、糖尿病、高血圧、悪性新生物、脳卒中、心臓病など多くの疾病の発症や進行に深く関わっている(日本生活習慣病予防協会(社)2020)。

世界 195 か国で、1990 年から 2017 年にかけ、15 の食因子の摂取傾向と非感染性の疾病との関連を調べた最大規模の研究である世界疾病負担研究(GBD)の最新報告によると、世界中の5人に一人は不健康な食生活が原因で寿命が短縮し、死亡しており、その影響は喫煙よりも深刻だと報告している(GBD 2017 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators 2018)。その研究によれば、食事の中で最も強く影響していたのは、全粒穀物摂取量の少なさであり、塩分やトランス脂肪酸の摂取が多すぎることよりも、より大きな影響を及ぼしているという。

このように、食事内容は健康に大きな影響を及ぼすため、多くの国は食事摂取基準を設けている。しかし、推奨量と現実の摂取量には差がある(GBD 2017 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators 2018)。ハーバード公衆衛生大学院のウォルター教授らが、栄養調査に基づいて 2011 年に作成したヘルシープレート(Harvard Health Publishing 2011)を例にとると、全粒穀物の積極的摂取が推奨され、精白したコメを制限し、玄米の摂取を推奨している。

しかし、玄米は調理時間が長くかかる、食感が悪いなどの食べづらさが問題である。その問題点を解決するために商品化されたものが、玄米を一晩水に浸漬させ、0.5 mm 程度に出芽させた発芽玄米である。発芽玄米は、白米と同様な調理が可能であるため、単独あるいは白米と混合し白米モードで調理可能なだけでなく、外皮が柔らかく、発芽に伴い酵素が活性化し、タンパク質からアミノ酸が、でんぷんから糖ができるため、甘みと旨味が増して食べやすくなる(石渡2003)。

発芽玄米は、ビタミン、ミネラル、食物繊維、必須アミノ酸などの基本的な栄養成分が豊富で、フェルラ酸、 γ - オリザノール、脂肪燃焼効果がある γ - アミノ酪酸(GABA)などの生物活性成分も多く含んでいるため(堀江ら 2004、堀江ら 2019)、白米よりも健康的であると考えられている。そのほか、発芽玄米を摂取することで、食後血糖値抑制作用(伊藤ら 2005)、

便通改善効果(前田ら 2015)、血圧改善効果(白井ら 2011)、肌のコラーゲン量増加(川名ら 2005)、ストレス負荷軽減効果(Shirai ら 2010)などが得られると報告されている。

今日まで、発芽玄米は主に主食として消費する形態と考えられ、さまざまな研究が行われてきたが、視点を変えれば芽として消費する形態とも考えられる。実際、コメを 2~3 cm発芽させたコメもやしは、糖化酵素としてこめ飴づくりに利用されていた(本間 2011)。その歴史は古く、神武紀にその記録が残っている(牛島 2009)。

近年、発芽後数日間生長した新芽には、生長した植物よりも多くの植物化学物質を含むことが明らかとなり、その化学予防効果は消費者の興味を引き、消費量が増加している(Fahey ら1997、森山ら2004、Okumuraら2016)。これに伴い、世界中で新しいスプラウトの開発と化学予防に関する研究が盛んである(中井ら2019)。スプラウトとは、植物の新芽のことで、主に穀類、豆類、野菜の種子を人為的に発芽させ、発芽した芽と茎を食用とするもの(消費・安全局、2015)もしくは本葉展開前の幼植物体がそのまま食用に用いられるものをいう(前田ら2008)。

スプラウトの材料としては、アブラナ科、タデ科、ゴマ科、イネ科、マメ科に属する種子が考えられるが、その中でもアブラナ科のマスタード、タデ科のソバ、ゴマ科の白ゴマ、イネ科のライ麦、マメ科の緑豆、レンズ豆、大豆などがスプラウト化しやすい(光永 2006)。

また、大根(カイワレ)、エンドウ(豆苗)、ソバ、クレソン、ブロッコリー、レッドキャベツ、マスタード、ルッコラ、大豆スプラウト中の一般成分、脂肪酸組成、アミノ酸組成を調査した先行研究(水野 2006)によれば、マメ科であるエンドウと大豆スプラウトは、良質のタンパク質、呈味成分である遊離アミノ酸含量が高く、GABAも豊富に含む食品であると報告されている。

それだけでなく、スプラウトのケモプリベンションについては、ブロッコリースプラウトのがん抑制作用(Fahey ら 1997)、カイワレ大根のラジカル捕捉活性作用(森山ら 2004)、豆苗(そら豆スプラウト)のパーキンソン病症状コントロール作用(Okumura 2016)などが報告されている。

このような研究用のスプラウト試料は、主にスポンジなどの培地あるいは専用容器に種子を入れ、水を用いて栽培されている(Fahey ら 1997、光永 2006、渡辺ら 2016)。また、商業的なスプラウトは、主に培地や水を用いて人工光型植物工場で栽培されており、新たな栽培品目を選定する際には、簡易的栽培方式、ランニングコストの低減化が求められている(渡辺ら2016)。

それらの解決策の一つとして微酸性電解水(SAEW)によるスプラウト栽培に関する研究が世界的に行われており、スプラウト上の微生物の発生抑制、芽の伸長促進、GABA 含有量およびその他の機能性成分の向上等が報告されている(Rui ら 2011、 Liu ら 2013、 Li ら 2019, Li ら 2018)。

SAEW は、2002年に日本において食品添加物の殺菌剤として認可され、微生物数を減少させるための至適 pH が 5.0~6.5、有効塩素濃度(ACC)は 20~50 ppm であり、塩素濃度の高いほうが殺菌力は強い(Li ら 2018)。SAEW は日本において、農作物等、人畜および水産動植物に害を及ぼすおそれがないことが明らかなものとして、農林水産大臣および環境大臣が指定する農薬と定義された特定防除資材(農林水産省・環境省 2014)としても認められており、安全性が確認されている。SAEW とは、食品添加物の殺菌料として指定されている範囲「1.適切濃度の塩酸または塩酸に塩化ナトリウムを加えた水溶液であること、2.無隔膜電解槽で電解されたもの、3.生成水は ACC 10~80 ppm、pH 5.0~6.5 であること」を満たしたものであり、低い ACC で高い殺菌効果を発揮するものと定義されている(厚生労働省2002)。また、低い ACC の SAEW は、野菜の洗浄に使用されている次亜塩素酸ナトリウム溶液(ACC 100~200 ppm)と同様の効果がある(Li ら 2018)。

よって、SAEW を用いれば、微生物を抑制しながら機能性を高めたスプラウト玄米を開発できるのではないかと考えた。しかし、現在のところ玄米をカイワレ大根のようにスプラウト化させた商品は販売されておらず、栽培条件についての報告もない。なぜなら、玄米は水に浸ると微生物が増殖するだけでなく、コメ中の酵素が活性化され、発芽に伴いデンプン分解酵素活性が急速に高まるため、48 時間以上水に浸すと発酵臭が発生する(三枝 2016)。よって、米粒を残存させたままスプラウト化させ食品として用いるためには、まず栽培方法について検討する必要がある。

そこで、本研究では人工気象室内でSAEWと培地を用いてスプラウト玄米の水耕栽培を試みることにした。

スプラウト化させるための試料(玄米)は、千粒重がコシヒカリよりも約3g重く、大粒で、アミロース含有率およびたんぱく質含有率が低く、良食味米の理化学的特徴を有している(天井ら 2014)品種「ふくまる」を採用した。「ふくまる」は、茨城県で育成した早生品種で、県下全域を対象に普及推進された品種であり、大粒であることから、糠や胚芽に含まれる機能性成分がコシヒカリよりも豊富なのではないかと考えた。

最近では、食事による生活習慣病予防がクローズアップされ、食品の機能という考え方が浸透しており、1次機能は栄養、2次機能はおいしさ、3次機能は病気のリスクを低減する生物活性機能と定義されている(久保田ら 2011)。

玄米は、ビタミン、ミネラル、食物繊維などの1次機能、生活習慣病予防効果が期待できる3次機能(Osawa 2009)の面で、白米よりはるかに優れている。しかし、2次機能においては、玄米の糠臭、硬さ、消化が悪いなどの理由から白米には及ばない。それに加え、炊飯のしにくさもあり、玄米は健康志向の一部の人たちにしか利用されていなかった(石渡 2003)。しかし、発芽玄米は調理しやすいだけでなく、1次機能、2次機能、3次機能のすべてが玄米よりも優れている(石渡 2003)。

一方、約 60 cm まで生長した幼若稲は、コメにはないビタミン C と β - カロテンが豊富で、抗酸化作用が高まるため、粉末化され利用されている(熊谷ら 2004)。

以上により、本研究では、現在、市場に流通していないスプラウト玄米の開発を目指し、以下 の2点を目的とした。

- 1) 通常のスプラウトのように生食もしくは短時間加熱で食することができるスプラウト玄米の栽培条件の検討
- 2) スプラウト玄米に含まれる食品の栄養に関する1次機能、おいしさに関わる2次機能、発芽に伴って増加する生活習慣病予防・改善に役立つ機能成分であるGABAをはじめとする3次機能にかかわるアミノ酸含有量の調査

これらの目的を達成することで、スプラウト玄米は、世界的に問題となっている生活習慣病に対する機能性成分が発芽玄米よりも豊富に含んだ化学予防食品となり得るのか明らかにしたいと考えた。

第2章 発芽率を考慮した玄米種子の洗浄および発芽処理方法の検討

2.1 序

一般的に稲を育苗する際は、種籾の消毒→水に浸漬(積算温度約 100°C) →発芽→2~3 日間育苗(32°Cの暗室)、1 cm程出芽→弱い光を 2 日間(3~4 cmまで伸長) →緑化(通常の光に 4 日間)という工程をたどる。

水稲の主要な病害は、種子伝染性の病害であるため、稲作において最初の作業工程である種籾の消毒は非常に重要である(内藤 1999)。現在、防除効果の高い化学農薬を用いた消毒方法が一般的である。しかし、使用後の大量の廃液処理による環境への影響(黒田ら 2007)や消費者の安心・安全な食品を好む傾向の高まり(田中 2008)などの社会的要請に対応するため、化学的な薬剤を全く使用しない温湯消毒法が見直されている(濱田ら 2011)。温湯消毒の場合、処理温度は高く、長いほど防除効果が高くなるが、伸長異常および発芽率の低下につながる(濱田ら 2011)。また、病原菌は主にもみ殻に含まれており、もみ殻を残したまま薬剤で種子消毒しても発病を完全に防止することが難しい(内藤 2002)。

それだけでなく玄米の発芽時は、主にアミラーゼやプロテアーゼなどの酵素の働きにより貯蔵物質の加水分解が促進する。その際、微生物は玄米中の糖分を分解し、乳酸やアルコールなどを生成し、ネトやアンモニア臭などを発生させる(原田 1974)。

近年、安全性が確保されている特定防除資材として SAEW が着目されている。それに加え、当研究室での実験の結果、試料と SAEW (ACC 30 ppm)を 1:3 の割合に設定し、3°Cで5時間、撹拌洗浄した場合、玄米に付着している生菌数が未検出になった。

そこで、安全性の高い SAEW を使って、発芽を阻害しない種子の殺菌方法について検討したいと考えた。その際、玄米種子を温湯消毒する際には、 50° C・20分で高い防除効果が確認されている点(内藤 2002)と本研究で使用した微酸性電解水生成装置で生成される SAEW は、温度が高いほど殺菌効果が高いことが示されている点を参考にした。

稲種子は、水、酸素、温度の刺激を受ければ休眠状態から抜け出し、発芽状態に移行する休眠打破が起こるため、光は必須ではない。まず、胚で発芽条件が受容され、シベレリン合成とシグナル伝達によってアミラーゼやプロテアーゼが分泌される。これらの酵素は胚盤と糊粉層に隣接する胚乳に貯蔵されているデンプンとタンパク質を分解し、それらは次世代の苗の炭素源と窒素源として使用され、浸透圧上昇に伴う膨圧上昇により種子が破れ発芽する(啓林館2020)。よって、本章の実験では、発芽のための光の条件は検討項目に加えなかった。

以上により、本章では種子の洗浄や発芽に用いる水質と温度について最適な条件を選択するため、洗浄時の水温(20°Cと50°C)と洗浄・発芽時に用いる水質(蒸留水と微酸性電解水)を組み合わせた条件における洗浄後の種子表面に残存している生菌数および発芽率を調査した。

2.2 材料および方法

2.2.1 玄米

茨城県常陸太田産(2018年度)の茨城県推奨米、品種「ふくまる」玄米を常陸太田市の生産者から入手し、本研究用の試料とした。

2.2.2 洗浄水および栽培水

DW (pH 7.20±0.00) をコントロールとし、対照として、SAEW (PURESTER ミュークリーンII、森永乳業 (株)、日本)を用いた。pH は 6.00 ± 0.20 (pH メーター、LAQUAact D-7、 (株) 堀場製作所、日本)、ACC は 30.0 ± 6.0 ppm (水質計、AQUAB AQ-202 型、柴田科学 (株)、日本)に設定した。

2.2.3 玄米種子の洗浄方法

洗浄方法 20°Cの場合は、キャップ付き広口 PP 容器(250 mL)に玄米 15 g と 20°Cの DW または SAEW(ACC 30 ppm)を 200 mL/回を加え、50 rpm で 1 分間、2 回洗浄した。50°C 20 分の温湯殺菌法は、内藤ら(2002)の報告に準じ、20°Cの DW または SAEW で 1 回洗浄した後、50°Cの DW または SAEW(ACC 30 ppm)を 200 mL 入れ、50°Cに設定したウォーターバスに 20 分間浸漬した。

2.2.4 発芽方法

洗浄した玄米と $100\,\text{mL}$ の DW または SAEW をガラス製ペトリ皿(高さ直径 $9.5\,\text{cm}$)に入れ、 30°C に設定した発芽ボックス(Electronic fermenter SK-10、大正電気(株)、日本)内に静置し、自然光の下で 96 時間発芽させた。ペトリ皿あたりの玄米種子の数は、100、200、500 の 3 つのレベルに設定し、1 日 1 回水を交換した。

2.2.5 発芽率と生菌数の測定

発芽率は、発芽処理 96 時間後に計算した。芽が約 5 mm に達したものを発芽状態とみなし、発芽率はシャーレ内の発芽した玄米種子の数を播種した玄米種子の数で割ったものとして定義した。

発芽玄米の生菌数を測定するために、 $2.5 \, \mathrm{g}$ の発芽玄米と $22.5 \, \mathrm{mL}$ の滅菌 0.9%生理食塩水を滅菌ストマッカー袋に入れ、ストマッカー(BAGMIXER $100 \, \mathrm{Mini} \, \mathrm{Mix}$ 、フナコシ(株)、日本)、レベル 6 で 90 秒間処理した。一般的な生菌数と大腸菌群の測定では、上清 $1 \, \mathrm{mL}$ を滅菌 0.9%生理食塩水で連続希釈し、希釈液 $1 \, \mathrm{mL}$ をペトリフィルム($3\mathrm{MTMAC} \, \mathrm{プレート}$ 、 $3\mathrm{MTMSEC} \, \mathrm{プレート}$ 、 $3\mathrm{M} \, \mathrm{ジャパン}$ (株)、日本)に接種した。芽胞菌を測定するためには、ストマッカー処理後の発芽玄米を $70^{\circ}\mathrm{C}$ に設定したウォーターバスに $20 \, \mathrm{分間浸}$ し、上清 $1\mathrm{mL}$ を滅菌 0.9%生理食塩水で連続希釈してコンパクトドライ(コンパクト乾燥 TC 、日水製薬(株)、日本)に接種した。すべての培地は、 $35^{\circ}\mathrm{C}$ で $48 \, \mathrm{時間培養した。培養後、培地上のコロニー数を数え、生菌数を(<math>\log \mathrm{cfu/g}$)で表した。 $1 \, \mathrm{Dog}$ 実験は $3 \, \mathrm{連で調整}$ し、独立した実験を $3 \, \mathrm{Dog}$ でた。

2.2.6 統計処理

統計解析ソフトウェア SPSS バージョン 26 (IBM) を使用した。発芽率、生菌数の違いについて、正規性の検定、分散分析 (ANOVA) を行い、Tukey-Kramer を用いた。すべての検定の有意水準は、p < 0.05 とした。

2.3 結果

2.3.1 洗浄方法の違いによる生菌数

本章では、温度(20℃と50℃)と水質(DWとSAEW)を組み合わせた洗浄方法の違いによる一般生菌、大腸菌群、芽胞菌数について調査した。

2.3.2 発芽処埋時の水質と温度による発芽への影響	
2.4 考察	
2.5 結論	



図 2-1. 種子洗浄後の生菌数

D:蒸留水 (pH 7.00±0.00)

S:微酸性電解水 (ACC 30.0±6.0 ppm、pH 6.00±0.20)

洗浄 20°C: 200 mL (20°C) ×2 回

洗浄 50°C: 200 mL×1 回 (20°C)、200 mL×1 回 (50°C)、ウォーターバス内 20 分浸漬

1回の実験は、n=3、独立した実験を3回行った。

異なる文字は、平均が著しく異なることを示す。(p<0.05, Tukey-Kramer)

エラーバーは、標準誤差を示す。



図 2-2. 異なる水質が種子洗浄と発芽率に及ぼす影響

D:蒸留水 (pH 7.00±0.00)

S:微酸性電解水 (ACC 30.0±6.0 ppm、pH 6.00±0.20)

洗浄 20°C: 200 mL (20°C) ×2 回⇒発芽のための栽培水 (20°C) (100 mL)

洗浄 50°C: 200 mL×1 回 (20°C)、200 mL×1 回 (50°C)、ウォーターバス内 20 分浸漬

A, C, D, F:1回の実験は $n=2\sim3$ 、独立した実験を4回行った。

B, E:1回の実験はn=3、独立した実験を2回行った。

G, H:1回の実験はn=3、独立した実験を1回行った。

異なる文字は、平均が著しく異なることを示す。(p<0.05, Tukey-Kramer)

エラーバーは、標準誤差を示す。

第3章 スプラウト玄米の水耕栽培のための培地および栽培水の選択

3.1 序

スプラウトの水耕栽培には、一般的に培地が用いられている。水耕栽培用の培地としては、これまでの研究から以下の4つが考えられた。

- ①カイワレ型スプラウト栽培で最も多く利用されているウレタン培地は、軽量、すべての植物に使用可能、水分の統制が容易、断熱性に優れている。また、耐薬品性が大きく、変質・変形がないため安全に消毒できる(栗原 1972)。
- ②もみ殻は、複数の水溶性の低分子化合物を含んでおり、それらが種子根の伸長を促進し、冠根の伸長を抑制する(草野 2001)。
- ③もみ殻を炭化させたもみ殻燻炭は、土壌に施用した場合、土壌の Si 含有量が増加し、光合成能力が向上する(小山 2015)。
- ④木材バージンパルプでできたパルプ培地は、保水性に優れているため、低頻度のかん水で済む(渡辺ら 2016)。

このように、各培地は、各々異なる特徴を持っているため、スプラウト玄米の水耕栽培にはどの培地が適しているのか、検討する必要があると考えた。

さらに、機能性を高める栽培方法を選択するため、スプラウト玄米に含まれているアミノ酸を、栄養の指標である 1 次機能、おいしさの指標である 2 次機能、生物活性機能の指標である 3 次機能および抗酸化作用のあるフェノール類、発芽玄米の代表的な機能性成分である GABA に焦点を当て、食品の機能性に分類して評価しようと考えた。

以上により、本章では、培地5種×水質(DW、SAEW)を組み合わせた10通りの条件で実験を行い、スプラウト玄米を栽培するために、最適な培地および栽培水について、スプラウト玄米の形態とアミノ酸含有量の両面から検討を行った。

3.2 材料および方法

3.2.1 培地

ウレタン 1.8 g (水耕栽培 葉菜用培地、Genuine Memory Store JP、日本)、パルプ 2.5 g (エコ培地、 (株) 田源、大阪、日本)、滅菌済みもみ殻 10.0 g (品種ふくまる、茨城県常陸太田市生産者、日本)、もみ殻くん炭 10.0 g ((株) 大宮グリーンサービス、日本)、水 100 m L を

準備した。水を除くすべての培地は、 $50\,\mathrm{mL}$ の水と混合し、縦、横それぞれ $7\,\mathrm{cm}$ 、高さ $4\,\mathrm{cm}$ のガラス容器に詰め、水を含む培地の高さを $2\,\mathrm{cm}$ とした。

3.2.2 栽培水

栽培に使用する水は、2.2.2 と同様に DW($pH7.20\pm0.00$)をコントロールとし、対照として、SAEW(PURESTER 1-0 リーン II、森永乳業(株)、日本)を用いた。1-0 は 1-0 は 1-0 に 1-0 に

3.2.3 栽培条件

第 2 章の結果から、最適な条件として選択した 20°Cの SAEW で洗浄、発芽させた玄米種子 30 個を各培地に移植し、植物生育インキュベーター内に静置した。 植物生育インキュベーター (V11-S01-RGB、MRT (株)、日本)内の環境は、明期 12 時間 30°C、暗期 12 時間 20°C、白色 LED で 24 時間サイクルに設定し、1 日 1 回水を交換し、8 日間栽培した。LED の輝度は輝度 352 μmolm⁻²s⁻¹で、光量子計(MQ-200、Apogee 社、アメリカ)で測定した。5 種類の培地×DW(D)、5 種類の培地×SAEW(S)の計 10 通り、各条件につき 2 連で調整し、独立した実験を 3 回行い、計 180 粒のスプラウト玄米について調査した。

3.2.4 スプラウト玄米の形態および乾燥重量の測定方法

実験ごとに各培地で栽培し、収集した 180 個のスプラウト玄米の芽の長さは、デジタルキャリパー(デジタルノギス、Gochael、フランス)を使用して測定した。 180 個のスプラウト玄米を穀物、根、芽に分割し、凍結乾燥機(EYELA-1200、東京理化器械(株)、日本)で 16時間乾燥させた後、計量した(電子天秤、IB-300、(株)AS ONE、日本)。穀物、根、および芽の重量は、穀物 1 粒あたりの重量に変換し、平均値±標準偏差(SD)として報告した。

3.2.5 アミノ酸分析用のサンプルの調整方法

アミノ酸の抽出手順は、守田(2017)が報告した条件に従った。 まず、凍結乾燥した玄米 (発芽前)と各培地で栽培した後凍結乾燥したスプラウト玄米をそれぞれミルで粉砕した(サイレントミルサーIFM-S30G、岩谷産業(株)、日本)。次に、50 mL のプラスチックコニカルチューブに粉末状のサンプル1gと2%スルホサリチル酸溶液(特級グレード試薬、(株)富士フイルム和光純薬工業、日本)9 mL を入れ混合し、混合物を25℃の温浴そうで30分間

振とうした後、6000 rpm で 10 分間遠心分離し(遠心機、CN-1050、(株) AS ONE、日本)、上清を 0.45 µm フィルターで濾過したものを分析用試料とした。

3.2.6 玄米およびスプラウト玄米のアミノ酸含有量の決定

アミノ酸分析は、筑波大学研究基盤センター分析部の自動アミノ酸分析装置(JLC-500 / V2、日本電子(株)、日本)を用いて行った。分析は、クエン酸リチウム緩衝液中の遊離アミノ酸の高分解能モードで 50 μ L のサンプルを使用し、ポストカラムニンヒドリン法で行った。測定時間は約 11 分。得られた試料のピーク面積と標準試料(アミノ酸混合標準液、AN-2型、B型を等量混合、(株)富士フイルム和光純薬工業、日本)のピーク面積を比較し、各アミノ酸の濃度を求めた。実験 1 回につき 1 サンプルとして独立した実験を 3 回行った。結果は食品の機能性ごとに分類し、100 g 乾燥重量(dw)あたりの平均値または平均値 \pm 標準偏差(mg)として報告した。

3.2.7 スプラウト玄米中のアミノ酸の機能性分類方法

1 次機能に関連するアミノ酸は、日本食品標準成分表(2015 版)から必須アミノ酸としてバリン(Val)、ロイシン(Leu)、イソロイシン(Ile)、スレオニン(Thr)、メチオニン(Met)、フェニルアラニン(Phe)、リジン(Lys)、ヒスチジン(His)、トリプトファン(Trp)、非必須アミノ酸としてグリシン(Gly)、アラニン(Ala)、セリン(Ser)、システイン(Cys)、プロリン(Pro)、チロシン(Tyr)、アスパラギン酸(Asp)、グルタミン酸(Glu)、アルギニン(Arg)、アスパラギン(Asn)、グルタミン(Gln)であると考えた。2 次機能に関連するアミノ酸は、先行研究から旨味となるグルタミン酸(Glu)、甘味となるスレオニン(Thr)、セリン(Ser)、プロリン(Pro)、グリシン(Gly)、アラニン(Ala)(河村 1993)であると考えた。

3 次機能に関連するアミノ酸は、先行研究から精神安定効果(藤林ら 2008、吉田ら 2015)、高血圧抑制効果(樋渡ら 2010、白井ら 2011)、中性脂肪増加抑制作用(堀江ら 2004)のある GABA や内分泌刺激作用のあるアルギニン(Arg)(日本小児内分泌学会 2013)およびマウスの体脂肪を下げる作用のある β - アミノイソ酪酸(β - AIBA)(Roberts ら 2014)であると考えた。

さらに評価項目として、抗酸化作用のあるフェノール類に着目した。フェノール類は、一次 代謝産物であるアミノ酸の Phe あるいは Thr から生合成される。発芽中のフェニルアラニ ン・アンモニア・リアーゼ活性により t—桂皮酸を介してアセチル CoA が結合し、還元や酵素 の影響を受け、フェノール類へと変化する。もう一つの経路は、t-桂皮酸が水酸化され、p-クマル酸やコーヒー酸、クマリン類に変化する経路である(今関 2009)。よって、本研究においては、Phe と Thr をフェノール類として評価した。

本研究で採用したアミノ酸分析方法では、上記に加え、その他のアミノ酸としてホスホセリン(P-Ser)、タウリン(Tau)、 $\alpha-$ アミノ酪酸(a-ABA)、 $\beta-$ アラニン($\beta-$ Ala)、モノエタノールアミン(MEA)、オルニチン(Orn)が検出されたため、総アミノ酸量に含めた。一方、検出されたが濃度が算出できなかった Trp、Asn、Gln は、本研究におけるアミノ酸含有量に含めなかった。

3.2.8 統計処理

統計解析ソフトウェア SPSS バージョン 26 (IBM) を使用した。異なる培地で栽培したスプラウト玄米の芽の長さには、分散の検定を行った後 Kruskal-Wallis を用いた。アミノ酸含有量の違いには、n数が 3 のため正規分布かつ等分散と仮定し、Tukey-Kramer を用いた。すべての検定の有意水準は、p <0.05 とした。

3.3 結果

3.3.1 スプラウト玄米の形態に及ぼす培地および水質の影響

表 3-1 には、芽の長さ、芽、根および粒の重量を 1 粒あたりの平均値 ± 標準偏差として示し、サンプルに使用した発芽後 8 日間栽培したスプラウト玄米を写真 3-1 に示した。

異なる培地と水質の 10 パターンの条件の下で栽培したスプラウト玄米の特徴は以下の通りである。

3.3.2 スプラウト玄米中のアミノ酸含有量に及ぼす培地および水質の影響

各培地におけるスプラウト玄米 100 g あたりの機能性ごとに分類したアミノ酸量を平均含有量 \pm 標準偏差(乾燥重量ベース)として、表 3-2、表 3-3、図 3-1(DW)および図 3-2 (SAEW)に示した。

3.4 考察

3.4.1 スプラウト玄米の形態に及ぼす培地および水質の影響

植物は、光合成によって、根から吸収した無機養分、水、大気中の二酸化炭素から酸素を発生して、植物体を構成している全ての成分を合成する。また、通常の育苗のように土壌中に種子がある場合は、発芽した芽が好気的な環境になり、発芽→発根→芽の伸長の順で生長する。光合成は、葉の細胞の中にある葉緑体で行われるが、光は、発芽、開花、茎の伸張、気孔の開閉、葉緑体の細胞内移動、光屈性のような植物の生活環境・代謝に必要な信号にも関与している。

3.4.2 スプラウト玄米中のアミノ酸含有量に及ぼす培地および水質の影響

通常の品種よりもたんぱく質と必須アミノ酸が多い巨大胚芽米品種では、通常のコメよりもGABA、リジン、ビタミンB1、ビタミンEが多く生産される(森山ら 2002)。

発芽は、イネのアミノ酸の生合成と分解を同時に開始させ、アミノ酸含有量に大きな変化を引き起こす(He ら 2013)。さらに、GABA の蓄積は、浸漬プロセス中のグルタミン酸デカルボキシラーゼ(GAD)活性によって誘導され、GAD は、L-グルタミン酸の二酸化炭素とGABA への脱炭酸を触媒する(Yao ら、2006)。

Kamjijam ら (2020) は、144 時間にわたって殻付きのイネを発芽させた結果、GABA 含有量の最高値は 31.4 mg / 100 g dw であり、24 時間浸漬後の玄米よりも 96 時間後で有意に高まると報告している。また、エクアドル産の玄米では、34°Cで 96 時間発芽させたとき、GABA 含有量(139.3 mg / 100 g dw)および総ポリフェノール含有量(306.7 mg / 100 g dw)が最大であったと報告されている(Cáceres ら 2014)。

3.5 結論

表 3-1. スプラウト玄米の形態に及ぼす培地および水質の影響

平均值±標準偏差 mg/粒:凍結乾燥重量

D:蒸留水 (pH 7.00±0.00)

S:微酸性電解水 (ACC 30ppm、pH 6.00±0.20)

各培地: n=180 (独立した実験3回)

p<0.05, Kruskal-Wallis



写真 3-1. 各培地と生長したスプラウト玄米

上段:スプラウト栽培用の培地

播種:30 粒/培地

栽培水:100 mL(A)、50 mL(B, C, D, E)

培地:高さ 2 cm、B $(10.0\,\mathrm{g})$ 、C $(2.5\,\mathrm{g})$ 、D $(1.8\,\mathrm{g})$ 、E $(10.0\,\mathrm{g})$

下段:発芽後8日間栽培したスプラウト玄米

表 3-2. 異なる培地で栽培したスプラウト玄米のアミノ酸含有量(蒸留水)

平均值 ± 標準偏差 (mg/100 g dw)

表 3-3. 異なる培地で栽培したスプラウト玄米のアミノ酸含有量(微酸性電解水)

平均值 ± 標準偏差 (mg/100 g dw)

発芽後、蒸留水(D:pH 7.00±0.00)および微酸性電解水(S:pH 6.00±0.20)を栽培水として各培地で 8 日間栽培し、凍結乾燥した SBR のアミノ酸含有量(mg/100 g dw) SBR:1回の実験で n=1 (60 粒/1回)、独立した実験を 3 回行った。(計 n=3) 異なる文字は、平均が著しく異なることを示す。(p<0.05、Tukey-Kramer)

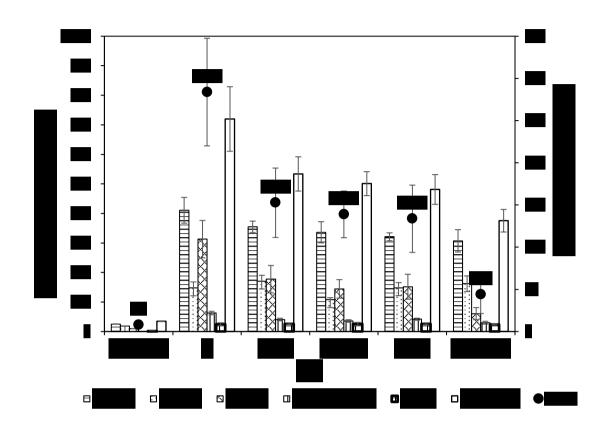


図 3-1. 異なる培地で栽培したスプラウト玄米のアミノ酸含有量(蒸留水)

発芽後、DW (pH 7.00 \pm 0.00) を栽培水として各培地で 8 日間栽培し、 凍結乾燥した SBR 中のアミノ酸含有量 (mg/100 g dw)

SBR:1回の実験で n=1 (60 粒/1回)、独立した実験を 3回行った。(計 n=3) エラーバーは、各機能性に分類されたアミノ酸含有量の合計の標準誤差を示す。

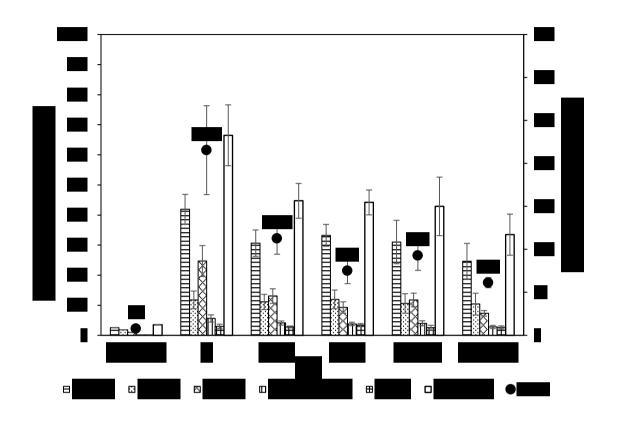


図 3-2. 異なる培地で栽培したスプラウト玄米のアミノ酸含有量(微酸性電解水)

発芽後、SAEW(ACC 30.0±6.0 ppm、 pH 6.00±0.20)を栽培水として各培地で 8 日間栽培し、凍結乾燥した SBR のアミノ酸含有量(mg/100~g~dw)

SBR:1回の実験で n=1 (60 粒/1回)、独立した実験を 3回行った。(計 n=3) エラーバーは、各機能性に分類されたアミノ酸含有量の合計の標準誤差を示す。

第4章 スプラウト玄米の最適栽培水の検討

4.1 序

SAEW は、玄米の発芽を促進し、GABA 含有量を高めると報告されている(Liu ら 2013)。さらに、SAEW には、スプラウト類生長改善作用(Rui ら 2013)があると報告されており、前章の結果から本研究のスプラウト玄米も先行研究と同様、SAEW により GABA が高まり、生長が促進されたと考えられた。

よって、SAEWを使用すれば、栽培期間が短縮され、商業的な栽培時における低コスト化に 貢献できるだけでなく、スプラウト玄米の機能性も高められるのではないかと考えられた。

しかし、前章の実験では、実験装置の都合上、DW と SAEW を同時に実験することができず、SAEW が DW より有意であるのか確認できていない。

以上により、本章では、前章までの結果から本研究の目指すスプラウト玄米の栽培方法として最適であると判断された、コメと芽が水中に浸り続けるような嫌気的な状態を保ち、DWと SAEW を培地として同時に栽培し、最適な栽培水を選択するために、スプラウト玄米の形態およびアミノ酸含有量を調査した。

4.2 材料と方法

4.2.1 スプラウト玄米の栽培方法

発芽させた 30 粒の玄米を水(100 mL)の入った容器に入れ、1 回の実験につき 3 連調整し、同時に栽培した。独立した実験を 3 回行った。

栽培に使用する水は、2.2.2 と同様に蒸留水(DW 20° C、pH 7.00 ± 0.00)をコントロールとし、対照として SAEW(PURESTER ミュークリーンII,森永乳業(株)、日本)を用いた。pH は 6.00 ± 0.20 (pH メーター、LAQUAact D-7、(株)堀場製作所、日本)、ACC は 30.0 ± 6.0 ppm(ハンディ水質計、AQUAB AQ-202 型、柴田科学(株)、日本)に設定した。

4.2.2 スプラウト玄米の形態および乾燥重量の測定方法

実験ごとに各培地から収集した 270 のスプラウト玄米の芽の長さは、デジタルキャリパー (デジタルノギス、Gochael、フランス)を使用して測定した。 270 個のスプラウト玄米を穀物、芽に分割し、凍結乾燥機 (EYELA-1200、東京理化器械(株)、日本)で 16 時間乾燥させた後、計量した(電子天秤、IB-300、(株) AS ONE、日本)。

4.2.3 アミノ酸分析用のサンプルの調整方法

アミノ酸の抽出手順は、3.2.5と同様に守田(2017)が報告した条件に従った。

4.2.4 スプラウト玄米のアミノ酸含有量の決定

3.2.6 と同様に筑波大学研究基盤センター分析部の自動アミノ酸分析装置 (JLC-500 / V2、日本電子(株)) を用いて行った。

4.2.5 スプラウト玄米中のアミノ酸の機能性の分類方法

3.2.7 と同様に、1 次機能、2 次機能、3 次機能、フェノール類、総アミノ酸に分類した。

4.2.6 統計処理

統計解析ソフトウェア SPSS バージョン 26 (IBM) を使用した。水質の違いによる芽の長さ (mm) には、正規性の検定後、Mann-Whitneyの U検定を用いた。アミノ酸含有量の違いには、n数が 3 のため、正規分布かつ等分散と仮定し、t検定を用いた。すべての検定の有意水準は、p <0.05 とした。

4.3 結果

4.4 考察

先行研究では、水道水に比べ、SAEW が玄米の芽の伸長を促進させ、ACC 30 ppm は、ACC 5 ppm よりも強い殺菌力を持ち、植物に対し一種のストレスとなり、GAD、GABAトランスアミラーゼ、コハク酸セミアルデヒドデヒドロゲナーゼで媒介される GABA を蓄積するシグナル伝達回路が開始され、GABA が蓄積される可能性を示唆している(Liu ら2013)。

4.5 結論

表 4-1. 異なる水質で栽培したスプラウト玄米のアミノ酸含有量

平均值 ± 標準偏差 (mg/100 g dw)

D:蒸留水 (pH 7.00±0.00)

S:微酸性電解水 (ACC 30.0±6.0 ppm、pH 6.00±0.20)

DW、SAEW: それぞれ発芽後、8日間水中栽培したスプラウト玄米: 芽の長さ n=270

* p < 0.05, Mann-Whitney の U 検定

アミノ酸分析:1回の実験は n=1/回(30 粒×3)

それぞれ独立した実験を3回行った。(計 n=3)

有意差なし。(p>0.05、t 検定)

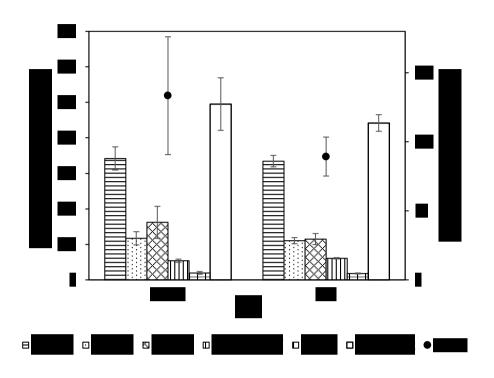


図 4-1. スプラウト玄米のアミノ酸含有量に及ぼす栽培水の影響

D:蒸留水 (pH 7.00±0.00)

S: 微酸性電解水 (ACC 30.0±6.0 ppm、pH 6.00±0.20)

DW、SAEW: それぞれ発芽後、8日間水中栽培したスプラウト玄米

アミノ酸分析:1 回の実験は n=1 (30 粒×3/回)、それぞれ独立した実験を3回行った

(計 *n=3* (270粒))

エラーバーは、各機能に分類されたアミノ酸含有量の合計の標準誤差を示す。

第5章 スプラウト玄米の栽培期間の選定

5.1 序

玄米は、発芽すると穀粒の栄養的および化学的プロファイルが変化することが多数の研究で示されている(Tiら 2014)。発芽中に呼吸と新しい細胞成分の合成のためにいくつかの分子が分解され、それが穀物の生化学的、栄養学的、感覚的特性に大きな変化を引き起こす。

Ti ら(2014)は、未処理から 48 時間における発芽段階の異なる玄米について調査した結果、遊離形態および結合形態のフェノール量が発芽過程中に変化することで結合酸素ラジカル吸収能が増加し、増加した結合フェノール類が吸収後に有益な健康効果を及ぼす可能性があると報告している。

また、Kamjijam ら(2020)は、24~144 時間の発芽段階の異なる玄米中の GABA および Glu 量は、発芽時間と高い相関を示し、それらは発芽 48 時間以内に急激に増加し、GABA 含有量の最大値は、96 時間後であり、発芽中の GABA 含有量とタンパク質含有量に相関性がみられたと報告している。

本研究の結果でも先行研究と同様に、発芽前の玄米よりも発芽したスプラウト玄米のアミノ 酸含有量が有意に高まった。

しかし、前章までの調査ではアミノ酸含有量および機能性が最も高まる形態が不明であり、 スプラウト玄米の最適な形態を明らかにするためには、異なる発芽段階のスプラウト玄米中の アミノ酸含有量を調査する必要がある。

以上により、先行研究と同様に芽の長さを基点にして、アミノ酸含有量を調査した。その結果が、先行研究と同様なアミノ酸の挙動を示せば、本実験の妥当性が確認できるだけでなく、 機能性成分ごとのスプラウト玄米の最適形態が明らかとなり、効率的に目的の機能性成分を摂取するための知見が得られると考えた。

5.2 材料および方法

5.2.1 スプラウト玄米の栽培方法

5.2.2 評価地点の設定

以下の 5 段階に設定した。G0 期:処理なし(0 日)、G1 期:発芽(3 mm($2\sim3$ 日))、G2 期:不完全葉($5\sim15$ mm(4 日))、G3 期:第 1 葉($20\sim30$ mm(7 日))、G4 期:第 2 葉($40\sim70$ mm(14-19 日))(写真 5-1)

5.2.3 スプラウト玄米の形態および乾燥重量の測定方法

各発芽段階で収集したスプラウト玄米の芽の長さは、デジタルキャリパー(デジタルノギス、Gochael、フランス)を使用して測定した。 収集したスプラウト玄米を穀物、芽に分割し、凍結乾燥機(EYELA-1200、東京理化器械(株)、日本)で 16 時間乾燥させた後、計量した(電子天秤、IB-300、(株) AS ONE、日本)。

5.2.4 アミノ酸分析用のサンプルの調整方法

アミノ酸の抽出手順は、3.2.5と同様に守田(2017)が報告した条件に従った。

5.2.5 スプラウト玄米のアミノ酸含有量の決定

3.2.6 と同様に筑波大学研究基盤センター分析部の自動アミノ酸分析装置 (JLC-500 / V2、日本電子(株)) を用いて行った。

5.2.6 スプラウト玄米中のアミノ酸の機能性の分類方法

3.2.7 と同様に、1 次機能、2 次機能、3 次機能、フェノール類、総アミノ酸量に分類した。

5.2.7 統計処理

統計解析ソフトウェア SPSS バージョン 26 (IBM) を使用した。アミノ酸含有量の違いは、n数が 3 のため、正規分布かつ等分散と仮定して、Tukey-Kramer を用いた。すべての検定の有意水準は、p <0.05 とした。

5.3 結果

5.4 考察



先行研究によれば、 34° Cで 96 時間後に、GABA の含有量が最大(139.3~mg/100~g~dw)になる(Cáceres ら 2014)ことや籾付き玄米を発芽させた先行研究では、GABA や GABA 基質の Gluや Gln、コメの欠乏アミノ酸である Lys や Trp は、発芽処理後 $72\sim96$ 時間で急激に増加し、

Ala、Arg、Gly、Met、Pro、Ser、Tyr、Val なども 72~96 時間後に高まると報告し	ている
(Kamjijam & 2020)。	
5.5 結論	

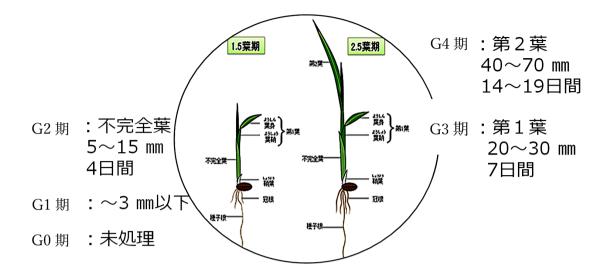




写真 5-1. スプラウト玄米の発芽ステージ分類

表 5-1. スプラウト玄米の生長段階におけるアミノ酸含有量

平均值 ± 標準偏差 (mg/100 g dw)

洗浄後の玄米種子を微酸性電解水(ACC 30.0±6.0 ppm、pH 6.00±0.20)で栽培した。 1回の実験は n=1(30 粒×6/回)、それぞれ独立した実験を 3回行った。(計 n=3) 異なる文字は、平均が著しく異なることを示す。(p<0.05、 Tukey-Kramer)

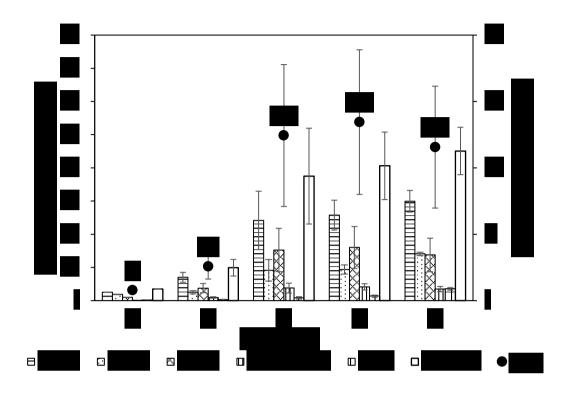


図 5-1. 発芽ステージにおけるスプラウト玄米のアミノ酸含有量

S: 微酸性電解水 (ACC 30.0±6.0 ppm、pH 6.00±0.20) で栽培し、

凍結乾燥した SBR のアミノ酸含有量 (mg/100 g dw)

アミノ酸分析:1 回の実験で n=1 (30 粒×3/回)、それぞれ独立した実験を3回行った。 (計 n=3)

エラーバーは、各機能に分類されたアミノ酸含有量の合計の標準誤差を示す。

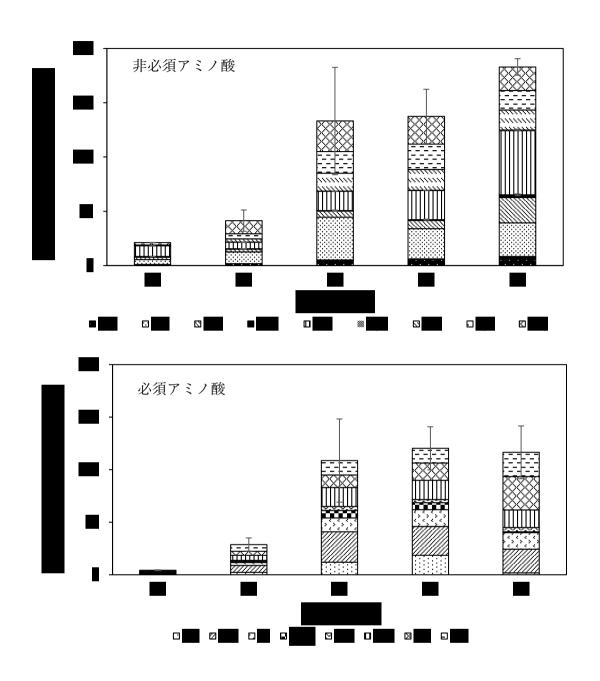


図 5-2. 発芽ステージにおける 1 次機能アミノ酸含有量の変化

S: 微酸性電解水(ACC 30.0±6.0 ppm、pH 6.00±0.20)で栽培し、

凍結乾燥した SBR のアミノ酸含有量 (mg/100 g dw)

アミノ酸分析:1 回の実験で n=1 (30 粒×3/回)、それぞれ独立した実験を3回行った。 (計 n=3)

エラーバーは、各機能に分類されたアミノ酸含有量の合計の標準誤差を示す。

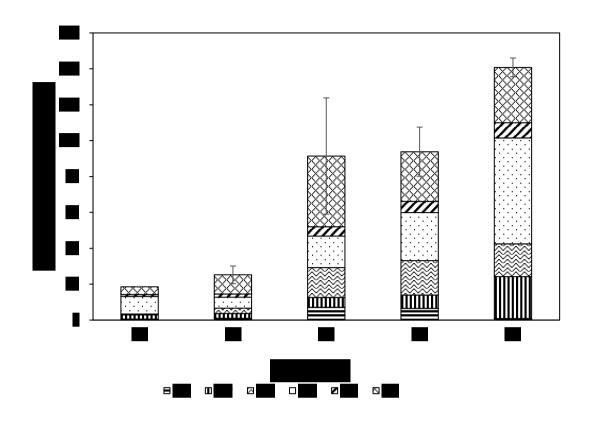


図 5-3. 発芽ステージにおける 2 次機能アミノ酸含有量の変化

S: 微酸性電解水 (ACC 30.0±6.0 ppm、pH 6.00±0.20) で栽培し、

凍結乾燥した SBR のアミノ酸含有量 (mg/100 g dw)

アミノ酸分析:1 回の実験で n=1 (30 粒×3/回)、それぞれ独立した実験を3回行った。 (計 n=3)

エラーバーは、2次機能に分類されたアミノ酸含有量の合計の標準誤差を示す。

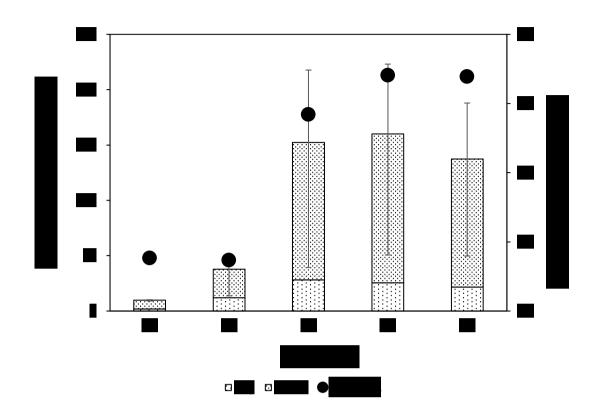


図 5-4. 発芽ステージにおける 3 次機能アミノ酸含有量の変化

S: 微酸性電解水(ACC 30.0 ± 6.0 ppm、pH 6.00 ± 0.20)で栽培し、

凍結乾燥した SBR のアミノ酸含有量 (mg/100 g dw (乾燥重量))

アミノ酸分析:1 回の実験で n=1 (30 粒×3/回)、それぞれ独立した実験を3回行った。 (計 n=3)

エラーバーは、3次機能に分類されたアミノ酸含有量の合計の標準誤差を示す。

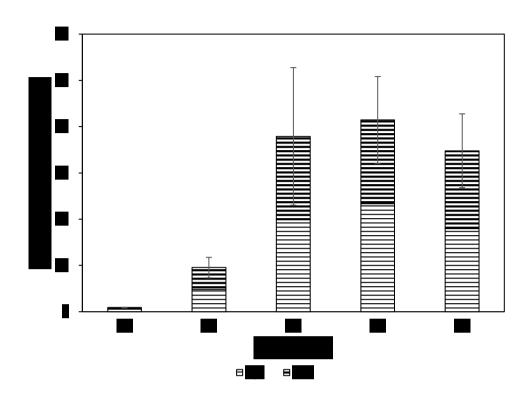


図 5-5. 発芽ステージにおけるフェノール類含有量の変化

S: 微酸性電解水 (ACC 30.0±6.0 ppm、pH 6.00±0.20) で栽培し、

凍結乾燥した SBR のアミノ酸含有量 (mg/100 g dw)

アミノ酸分析:1 回の実験で n=1 (30 粒×3/回)、それぞれ独立した実験を3回行った。 (計 n=3)

エラーバーは、フェノール類に分類されたアミノ酸含有量の合計の標準誤差を示す。

第6章 スプラウト玄米の栽培条件の最適化

6.1 序

限られた空間で植物を栽培する際には、根域の環境要因が生育に重要な要素である(岡本 2013)。先行研究によれば、白よりも黒のマルチビニールのほうがレタスの収量が高く(笠原 1964)、白色より黒色の鉢の土壌温度が高温になる傾向がみられている(岡本 2013)。

また、玄米に対する SAEW の影響を調査した先行研究では、ACC が 30 ppm より 20 ppm のほうが玄米の芽を伸長させ、pH 6 よりも pH 3 のほうが玄米中の GABA を高めると報告している(Liu ら 2013)。しかし、赤玉ねぎ抽出液を用いた玄米の発芽実験では、発芽のための浸漬水の至適 pH は $5.0\sim7.0$ (大坪 特開 2011)であり、コシヒカリ胚芽中の GABA の至適 pH は 5.5 付近であると報告されている(三枝 特開 1996)。

さらに、ブロッコリースプラウトに対する SAEW の ACC の影響を調査した先行研究では、 ACC が高いほど芽の長は抑制されるが、最も優れた化学保護特性を持つスルフォラファン含有量、ミロシナーゼ活性は、ACC 40 ppm、pH 5.47±0.25 で有意に高まり、有害菌も抑制されると報告している(Li ら 2018)。

以上により、均一な形態のスプラウト玄米の収量および機能性を高めるためには、根域領域と 栽培水について検討を行う必要があると考えた。そこで、2色の栽培容器を作成し、その色と SAEW の ACC の違いが及ぼす発芽率、スプラウト玄米への形態、アミノ酸含有量について調査 した。

次に、最適栽培条件と判断した容器と栽培水を用い、生鮮状態のスプラウト玄米中の有害菌に対する SAEW の ACC の影響について調査し、生鮮スプラウト玄米は、カイワレ大根のように洗浄しただけで安全に食べることができるのか確認した。

6.2 材料と方法

6.2.1 洗浄および栽培水に用いる微酸性電解水

本研究で使用した微酸性電解水生成装置(PURESTER ミュークリーン II、森永乳業(株)、日本)は、ACC を 30 ppm(ハンディ水質計、AQUAB AQ-202 型、柴田科学(株)、日本)に設定すると pH 6.0(pH メーター、LAQUA act D-7、(株)堀場製作所、日本)付近の SAEW が生成され、ACC 40 ppm に設定した場合、pH 5.5 付近の SAEW が生成される。本研究室の微酸性電解水生成装置は、ACC 30 ppm 以上の塩素濃度には調整できないため、微酸性電解水生成装置の製造元である森永乳業(株)にご協力いただき、ACC 40 ppm 付近に調整した SAEW を入手し、ACC 30.0 ± 6.0 ppm(pH 6.00 ± 0.20)と ACC 43.0 ± 3.0 ppm(pH 5.45 ± 0.15)を用いて実験を行った。

6.2.2 栽培容器

コメ粒一つがちょうど収まるように穴のサイズを深さ 7 mm、上面 5 mm 角、底面 2 mm 角に設定し、1 プレートに 256 穴および 324 穴のある白 (A) と黒 (B) の栽培容器を 3 D プリンターで作製した(写真 6-1).

6.2.3 スプラウト玄米の栽培方法

前章の結果より、本研究におけるスプラウト玄米の栽培方法は、SAEWによる水中栽培が最適であると判明したため、発芽処理してから移植する必要がないと判断した。

そこで、本章より 20° Cの SAEW で洗浄した玄米種子(256 または 324 個)は、発芽処理せずに直接栽培容器に播種し、容器ごと SAEW が 500 mL 入った透明なガラス容器に入れた。1回の実験につき黒と白の容器を 1 つずつ調整し、同時に栽培した。

次に、ACC を変えて同様にスプラウト玄米を栽培した。

植物生育インキュベーター(V11-S01-RGB、 MRT(株)、 日本)内の環境は、前章と同様に明期 12 時間 30°C、暗期 12 時間 20°C、白色 LED(輝度 352 μ molm^{-2s-1})で 24 時間サイクルに設定し、1日1回水を交換し、8日間栽培した。それぞれ独立した実験を 3回行った。

6.2.4 発芽率の決定方法

発芽率は、未発芽以外のものを発芽したとみなし、播種した玄米種子の数で割ったものとして定義した。

6.2.5 スプラウト玄米の形態および乾燥重量の測定方法

各容器と栽培水の組み合わせで収集された 256 粒ないし 324 粒のスプラウト玄米の芽の長さは、デジタルキャリパー(デジタルノギス、Gochael、フランス)を使用して測定し、芽の長さを基点に未発芽、5 mm 未満、5 以上 20 mm 未満、20 以上 40 mm 未満、40 以上 70 mm 未満に分類し、粒数を数え播種数に対する割合で示した。それぞれ分類したグループごとに生鮮時の重量を計測後、収集したスプラウト玄米をコメ粒、芽に分割し、凍結乾燥機(EYELA-1200、東京理化器械(株)、日本)で 16 時間乾燥させた後、再度計量した(電子天秤、IB-300、(株)ASONE、日本)。

6.2.6 アミノ酸分析用のサンプルの調整方法

アミノ酸の抽出手順は、3.2.5を若干変更し、下記のように行った。

凍結乾燥後のコメと芽は、それぞれ分けて、ミルで粉砕した(サイレントミルサーIFM-S30G、岩谷産業(株)、日本)。次に、 $50\,\mathrm{mL}$ のプラスチックコニカルチューブに粉末状のサンプルと 2%スルホサリチル酸溶液(特級グレード試薬、(株)富士フイルム和光純薬工業、日本)が 1:9 の割合になるように混合し、混合物を $25^\circ\mathrm{C}$ の恒温槽内(LET-500、東京理化器械(株)、日本)で $30\,\mathrm{分間振とうした}$ (MALTI SHAKER MS-300、(株)AS ONE、日本)後、 $6000\,\mathrm{rpm}$ で $10\,\mathrm{分間遠心分離}$ し(遠心機、 $\mathrm{CN-1050}$ 、(株)AS ONE、日本)、上清を $0.45\,\mathrm{mm}$ フィルターで濾過して分析用試料とした。

6.2.7 スプラウト玄米のアミノ酸含有量の決定

3.2.6 と同様に筑波大学研究基盤センター分析部の自動アミノ酸分析装置(JLC-500 / V2、日本電子(株))を用いて行った。

6.2.8 スプラウト玄米中のアミノ酸の機能性の分類方法

1 次機能、2 次機能、3 次機能、フェノール類は、3.2.7 と同様に分類し、それ以外のアミノ酸として、P—Ser、Tau、a—ABA、 β —Ala、MEA、Orn に加え、本章ではフェニチルアミン (PEA)、尿素 (Urea)、サルコシン (Sar)、 α —Pミノアビジン酸(AAA)、シトルリン (Cit)、塩化アンモニウム (NH $_3$)、1 — λ 4 チルヒスチジン (1MeHis)、3 - λ 4 チルヒスチジン (1MeHis)、 λ 5 - λ 6 かた。

6.2.9 有害菌の調査方法

6.2.3 の栽培方法に準じ、ACC30 ppm (pH 6.00) および 46 ppm (pH 5.60) 使用して、黒容器でスプラウト玄米を栽培した。

生鮮スプラウト玄米上の生菌数を測定するために、栽培直後のスプラウト玄米 $2.5\,\mathrm{g}$ を使用して $2.2.5\,\mathrm{e}$ と同様に実験を行った。 $1\,\mathrm{e}$ 回の実験は $3\,\mathrm{e}$ 連で調整し、独立した実験をそれぞれ $1\,\mathrm{e}$ 行った。

洗浄後の有害菌を調査する際は、栽培直後のスプラウト玄米を流水(水道水)で1分間洗 浄したものをサンプルとし、上記と同様に実験を行った。

6.2.10 統計処理

統計解析ソフトウェア SPSS バージョン 26 (IBM) を使用した。栽培条件(容器の色・ACC)の違いによる発芽率、分類した芽の長さの割合、アミノ酸含有量および有害菌数に対する影響について、n数が 3 のため正規分布および等分散と仮定して、Tukey-Kramer を用いた。すべての検定の有意水準は、p < 0.05 とした。

6.3 結果

6.3.1 発芽率およびスプラウト玄米の形態に及ぼす容器と微酸性電解水の有効塩素濃度の影響

6.3.2 スプラウト玄米中のアミノ酸含有量に及ぼす容器と微酸性電解水の有効塩素濃度の影響 栽培条件と部位別(コメ、芽)の機能性ごとに分類したアミノ酸含有量を表 6-2 に示した。

6.3.3 栽培条件が及ぼすスプラウト玄米上の有害菌への影響

6.4 考察

6.4.1	発芽率およびスプラウト玄米の形態に及ぼす容器と微酸性電解水の有効塩素濃度の影響

6.4.2	スプラウト玄米中のアミノ酸含有量に及ぼす容器と微酸性電解水の有効塩素濃度の影響

6.4	1.3 栽培条件が及ぼすスプラウト玄米上の有害菌への影響
6.5	結論 結論

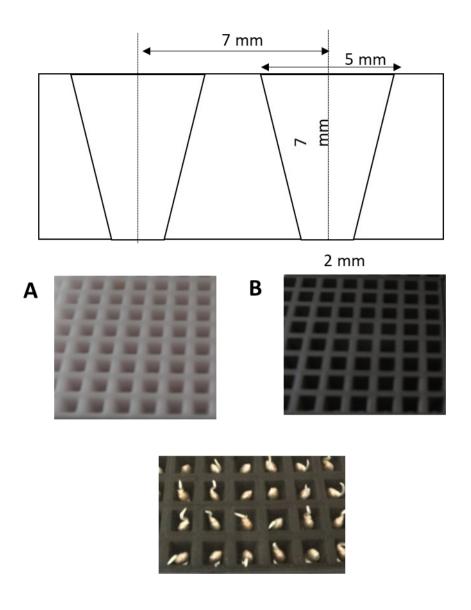


写真 6.-1 栽培用容器

表 6-1. 異なる栽培容器と有効塩素濃度が及ぼすスプラウト玄米の発芽率および形態への影響

平均值±標準偏差

- 1) 重量/粒 (mg fw) =G3+G4/grain
- 2) 発芽率=G1、G2、G3、G4/播種粒数*100
- 黒・白色の栽培容器に洗浄後の玄米を播種し、ACCの異なる微酸性電解水を用い、
- 8日間栽培した。 1回の実験は n=1、独立した実験を3回行った。

(*p*>0.05, *Tukey-Kramer*)

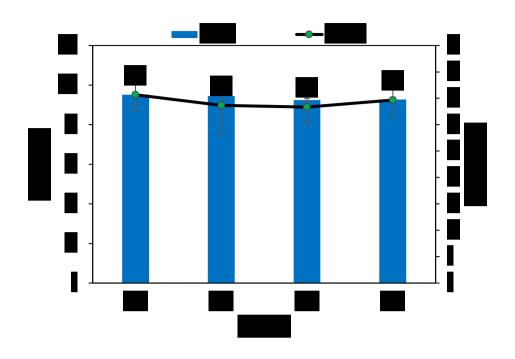


図 6-1. 異なる栽培容器と有効塩素濃度が及ぼすスプラウト玄米の発芽率への影響

黒・白色の栽培容器に洗浄後の玄米を播種し、ACCの異なる微酸性電解水を用い、

- 8日間栽培した。 1回の実験はn=1、独立した実験を3回行った。 (計n=3)
- 1) 発芽率=G1、G2、G3、 G4/播種粒数*100
- 2) 重量/粒 (mg) =G3+G4/粒
- 3) エラーバーは、標準誤差を示す。

(p>0.05, Tukey-Kramer)

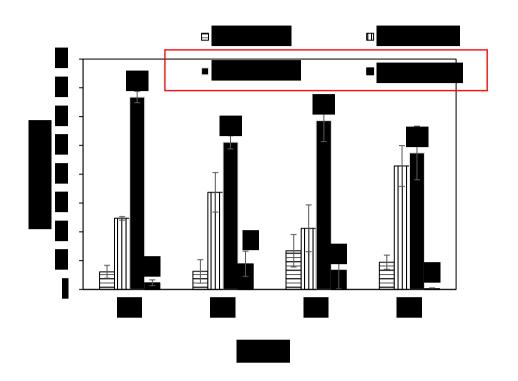


図 6-2. 異なる栽培容器と有効塩素濃度が及ぼすスプラウト玄米の形態への影響

黒・白色の栽培容器に洗浄後の玄米を播種し、ACCの異なる微酸性電解水を用い、

- 8日間栽培した。 1回の実験は n=1、独立した実験を 3回行った。 (計 n=3)
- 1) 各栽培条件による芽の伸長割合
- 2) G3、G4 はアミノ酸分析用試料
- 3) エラーバーは、標準誤差を示す。

(p>0.05, Tukey-Kramer)

表 6-2. 異なる栽培容器と有効塩素濃度で栽培したスプラウト玄米のアミノ酸含有量

平均值 ± 標準偏差 (mg/100 g 乾燥重量)

- 1) 30 kt SAEW ACC 30.0 ± 6.0 ppm (pH 6.00 ± 0.20) 40 kt SAEW ACC 43.0 ± 3.0 ppm (pH 5.45 ± 1.50)
- 2) 容器の色:白、黒
- 3) 部位:米、芽
- 4) G3、G4 期のスプラウト玄米中のアミノ酸含有量 洗浄後の玄米種子を播種し、8 日間栽培後のスプラウト玄米を凍結乾燥した。
- 5) 1回の実験は n=1、独立した実験を 3回行った。 (計 n=3)
- 6) 異なる文字は、平均が著しく異なることを示す。 (p < 0.05, Tukey-Kramer)

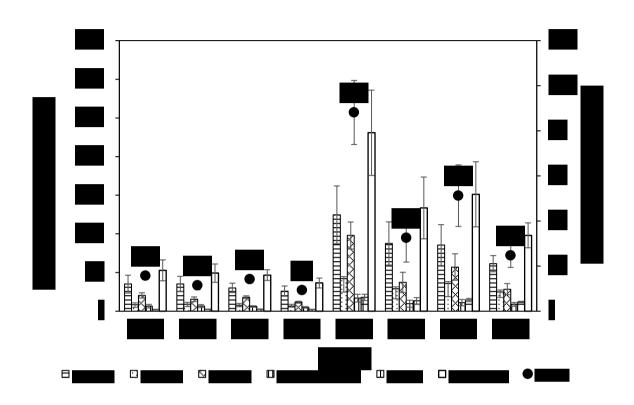


図 6-3. 異なる容器と有効塩素濃度で栽培したスプラウト玄米のアミノ酸含有量

- 1) 30 は SAEW ACC 30.0 \pm 6.0 ppm (pH 6.00 \pm 0.20) 40 は SAEW ACC 43.0 \pm 3.0 ppm (pH 5.45 \pm 0.15)
- 2) 容器の色:白、黒
- 3) 部位:米、芽 (mg/100 g dw) 洗浄後の玄米種子を播種し、8 日間栽培後の SBR を凍結乾燥した。
- 4) 1回の実験は n=1、独立した実験を 3回行った。(計 n=3)
- 5) G3、G4 はアミノ酸分析用試料とした。
- 6) エラーバーは、各機能性に分類されたアミノ酸含有量の合計の標準誤差を示す。

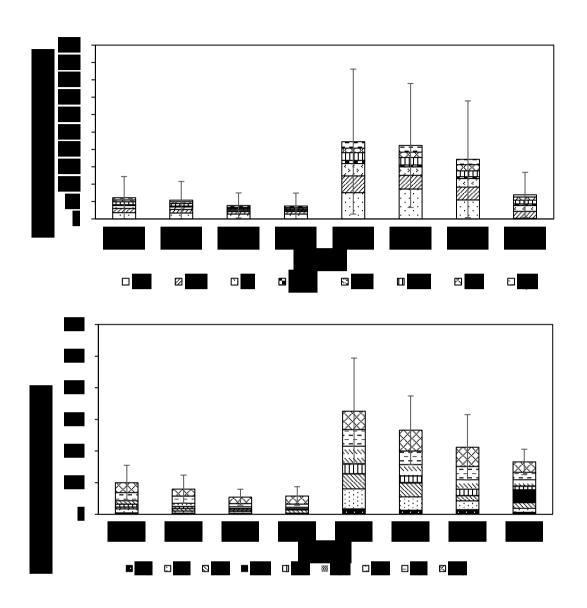


図 6-4. 異なる容器と有効塩素濃度で栽培したスプラウト玄米の1次機能アミノ酸含有量

- 1) 30 kt SAEW ACC 30.0 \pm 6.0 ppm (pH 6.00 \pm 0.20) 40 kt SAEW ACC 43.0 \pm 3.0 ppm (pH 5.45 \pm 0.15)
- 2) 容器の色:白、黒
- 3) 部位:米、芽 (mg/100 g dw)洗浄後の玄米種子を播種し、8 日間栽培後の SBR を凍結乾燥した。
- 1回の実験はn=1、独立した実験を3回行った。(計n=3)
- 4) エラーバーは、分類されたアミノ酸含有量の合計の標準誤差を示す。

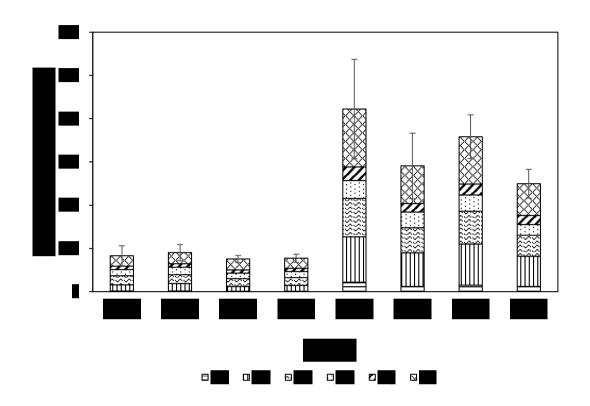


図 6-5. 異なる容器と有効塩素濃度で栽培したスプラウト玄米の2次機能アミノ酸含有量

- 1) 30 kt SAEW ACC 30.0 \pm 6.0 ppm (pH 6.00 \pm 0.20) 40 kt SAEW ACC 43.0 \pm 3.0 ppm (pH 5.45 \pm 0.15)
- 2) 容器の色:白、黒
- 3) 部位:米、芽 (mg/100 g dw)洗浄後の玄米種子を播種し、8 日間栽培後の SBR を凍結乾燥した。
- 1回の実験はn=1、独立した実験を3回行った。(計n=3)
- 4) エラーバーは、2次機能に分類されたアミノ酸含有量の合計の標準誤差を示す。

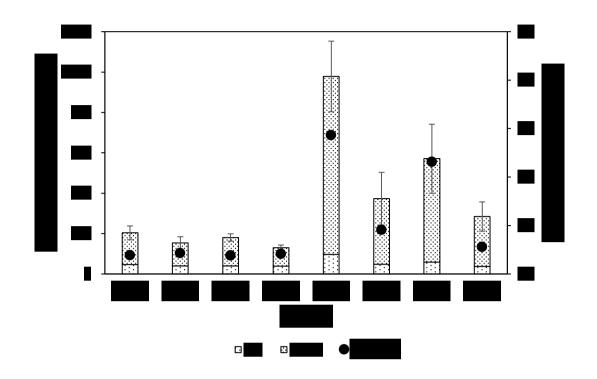


図 6-6. 異なる容器と有効塩素濃度で栽培したスプラウト玄米の3次機能アミノ酸含有量

- 1) 30 kt SAEW ACC 30.0 \pm 6.0 ppm (pH 6.00 \pm 0.20) 40 kt SAEW ACC 43.0 \pm 3.0 ppm (pH 5.45 \pm 0.15)
- 2) 容器の色:白、黒
- 3) 部位:米、芽 (mg/100 g 乾燥重量) 洗浄後の玄米種子を播種し、8 日間栽培後の SBR を凍結乾燥した。
 - 1回の実験はn=1、独立した実験を3回行った。(計n=3)
- 4) エラーバーは、3次機能に分類されたアミノ酸含有量の合計の標準誤差を示す。

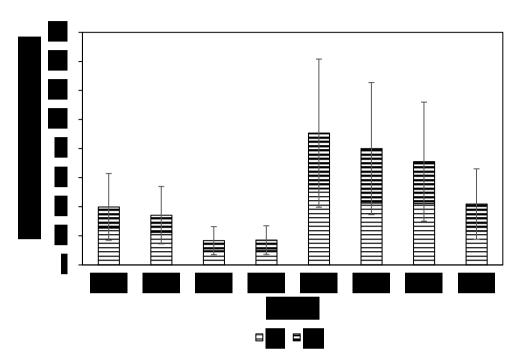


図 6-7. 異なる容器と有効塩素濃度で栽培したスプラウト玄米のフェノール類含有量

- 1) 30 \sharp SAEW ACC 30.0 \pm 6.0 ppm (pH 6.00 \pm 0.20) 40 \sharp SAEW ACC 43.0 \pm 3.0 ppm (pH 5.45 \pm 0.15)
- 2) 容器の色:白、黒
- 3) 部位:米、芽 (mg/100 g dw)洗浄後の玄米種子を播種し、8 日間栽培後の SBR を凍結乾燥した。
 - 1回の実験はn=1、独立した実験を3回行った。(計n=3)
- 4) エラーバーは、フェノール類に分類されたアミノ酸含有量の合計の標準誤差を示す。

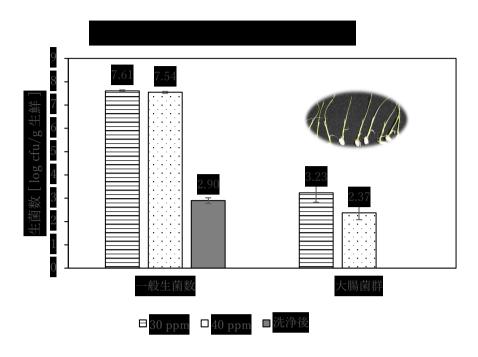


図 6-8. 生鮮スプラウト玄米と洗浄後のスプラウト玄米上の生菌数

- 1) 30 は SAEW ACC 30 ppm (pH 6.00) 40 は SAEW ACC 46 ppm (pH 5.60)
- 2) 処理した玄米種子を黒容器に播種し、8日間栽培後の生鮮状態のスプラウト玄米を調査した。 1回の実験は n=2、独立した実験を 3回行った。
- 3) 洗浄後:ACC 30 ppm と黒容器で 8 日間栽培した生鮮スプラウト玄米を水道水で 1 分間洗浄した。1 回の実験は n=3、独立した実験を 1 回行った。
- 4) 異なる文字は、平均が著しく異なることを示す。 (p<0.05、Tukey-Kramer)

第7章 総合考察

7.1 本研究のまとめ

本研究は、現在世界的な問題となっている生活習慣病をはじめとする疾病に大きな影響を与えている、全粒穀物の摂取量の少なさに対し、食品の生産の面から貢献することを目的とした。

そこで、全粒穀物であり、生活習慣病対策に有効な様々な機能性を持つ発芽玄米とケモプリベンション効果を持つ新たなスプラウト(発芽野菜)食品として、スプラウト玄米の開発のための技術的な条件について検討を行った。

有効性が認められている 1 日の GABA 摂取量の目安は、精神安定作用には 26.4~70 mg/日、血圧降下作用には 10~80 mg/日である(佐々木 2010)。いずれの作用にも確実に効果が期待できる摂取量の目安は、1 日当たり 30 mg 程度以上が適当であり、副作用を認めた症例はない(佐々木 2010)。

7.2 本研究の社会への影響と発展

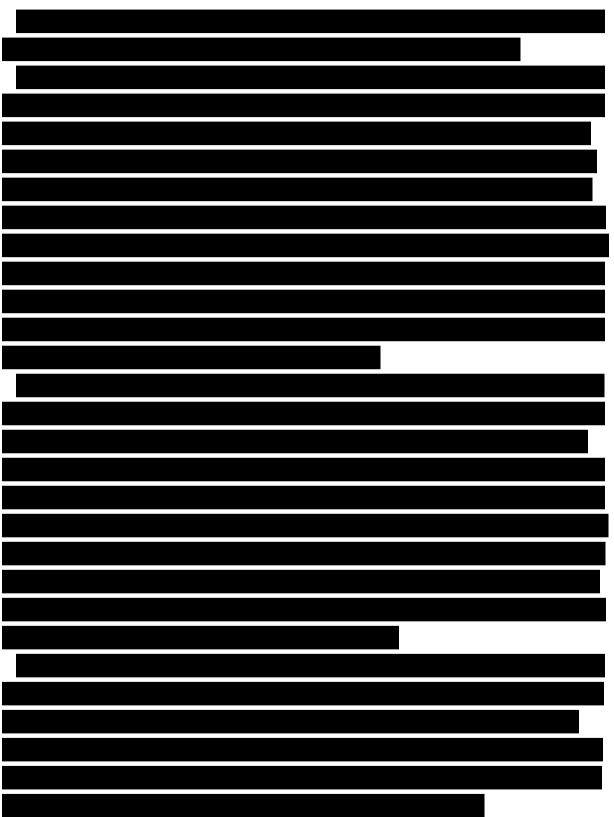
現在、発芽玄米や加工玄米は健康食品と認知され、未調理のものから調理済みパックまたおに ぎりとしてコンビニエンスストアやスーパーなどで簡単に手に入るため、身近な食品となってい る。

コメは、世界生産高第3位の穀物であるだけでなく、我が国においては主食と考えられている 日本の気候にあった作物である。

現在、主食用のコメの自給率は 100%である(農林水産省 2012)。しかし、日本の年間 1 人 当たりのコメの消費量は、2017 年には 1965 年時の半分以下に減少している。このような現状を 踏まえ、消費量を上げ自給率を保持する目的で、1991 年から農林水産省で開始された「スーパーライス計画」により、コメの食品としての 2 次機能や 3 次機能の改善、多様化等を目的に新形質米が作られるようになった(大坪 2002)。発芽玄米もこれらの一種と考えられるが、その消

費量は2010年をピークに年々下降している(玄米白書 2019)。この傾向は、消費者が以前に も増して、より簡単で短時間な調理を好むようになってきているためであろうと考える。

7.3 今後の展望



さらに近年、生活習慣病におけるケモプリベンション効果から注目されているスプラウトは、種子の状態であれば長期保存ができ、わずかなスペースと水だけで誰にでも簡単に栽培できることから災害時の非常食として検討されている。その報告によれば、高いアミラーゼ活性が含まれているスプラウトは、デンプン性食品を摂取した際の消化剤として効果が期待でき、ストレスのかかる災害時等の食生活時において、消化器官の健康維持のために有効である可能性、またアミノ酸の供給源となる可能性が示唆されている(光永 2008)。

スプラウト玄米の研究は始まったばかりである。

今後、商業的に生産するためには、製造コストを抑えるための製造設備や生産方法、販売に至るまでの技術開発が必要である。

同時に、消費者の購買意欲に対する戦略も重要かつ欠かせないポイントであると考えられるため、スプラウト玄米の機能性を生かした簡単で美味しく食べられるレシピを開発し、消費者へアピールするためのツールとして活用していきたいと考えている。



写真 7-1. 生鮮スプラウト玄米

引用文献・参考文献

- 1. 日本生活習慣病予防協会(社)(2020). 生活習慣病とは _ 生活習慣病とその予防. http://www.seikatsusyukanbyo.com/prevention/about.pHp (2020/11/13 閲覧)
- 2. GBD 2017 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. (2018). Global, 396 regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 397 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990–2017: A systematic analysis 398 for the global burden of disease study 2017. The Lancet, 392, 1789–1858.
- 3. The Nutrition Source | Harvard T.H. Chan School of Public Health (2011). Healthy
 Eating Plate. In Harvard Health Publications.

 https://www.hspH.harvard.edu/nutritionsource/healthy-eating-plate/ (2020/11/13 閲覧)
- 4. 石渡健一(2003).発芽玄米の機能性.美味技術研究会誌, (3-4), 12-18.
- 5. 堀江健二、東口伸二、横越英彦(2004). γ アミノ酪酸(GABA)による脂肪燃焼効果 (特集 ダイエット食品素材). Food Style 21, 8(3), 64–68.
- 6. 堀江健二,渡部和哉、 坂下真耶、山津敦史(2019). GABA の生産技術の確立と高機能食品の市場開発. ユニークな機能性食品素材"GABA"はどのようにして生まれたか?化学と生物,57(4),207-212.
- 7. 伊藤幸彦、申曼珍、喜瀬光男、速水耕介、芳野原、吉原理恵、横山淳一(2005). 空腹時高血糖者の食後血糖、インスリン反応に及ぼす発芽玄米摂取の影響. 日本食品化学学会誌, 12 (2), 80-84.
- 8. 前田雪恵、辻井良政、矢冨伸治、井上明浩、高野克己(2015). 玄米食の安全性について. 日本食品保蔵科学会誌,41(6),273-275.

- 9. 白井展也、鈴木啓太郎、大坪研一(2011). NaCl を添加した発芽玄米の高血圧自然発症ラット(SHR/Izm)の血圧上昇抑制効果と血糖調整に関連するホルモンへの影響. 日本食品科学工学会誌, 58(7), 324-329.
- 10. 川名広子、井原美香、伊藤幸彦、水口彩、大西美咲、石渡健一、有田政信(2005). 女子大生の肌状態に及ぼす発芽玄米の影響 日本食生活学会誌,16(2),108-113.
- 11. Shirai, N., Suzuki, H., Suzuki, K., Ohtsubo, K (2010) . Effect of Extruded Polished, Brown, and Germinated Brown Rice on the Behavior and Plasma Parameters of ICR Mice. Food Science and Technology Research, 16 (6), 621–626.
- 12. 本間恭子、角野猛、真鍋久 (2011). 福島県南会津地域に」伝わる「麦芽水飴」の特性. 日本食生活学会誌、22 (2)、106-113.
- 13. 牛島英俊(2009) 飴と飴売りの文化史. 22, 25
- 14. Fahey, J. W., Zhang, Y., & Talalay, P (1997). Broccoli sprouts: an exceptionally rich source of inducers of enzymes that protect against chemical carcinogens. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 94 (19), 10367–10372.
- 15. 森山三千江、大羽和子(2004). C 量および豆苗子葉部の調理性. 日本家政学会, 55(2), 153-158.
- Okumura, K., Hosoya, T., Kawarazaki, K., Izawa, N., & Kumazawa, S (2016) . Antioxidant
 Activity of PHenolic Compounds from Fava Bean Sprouts. Journal of Food Science, 81 (6) ,
 1394–1398.
- 17. 中井勇介、渡辺慎一(2019) ダッタンソバ種子への吸水処理が発芽および生長に与える影響. 植物環境工学会誌, 31(4), 203-209.
- 18. 農林水産省消費・安全局(2015). スプラウト生産に用いる種子の消毒方法.pdf.

https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/kome/k_yasai/pdf/sprout_shishin.pdf (2020/11/13 閲覧)

- 19. 前田智雄、前川健二郎、戸田雅美、大島千周、角田英男、鈴木卓、大澤勝次 (2008). ブロッコリースプラウトの生育およびポリフェノール含量に及ぼす補光光質の影響. 植物環境工学会誌, 20 (2), 83-89.
- 20. 光永伸一郎 (2008) . 非常食として利用を目的とした各種スプラウトの成分分析. 浦上財団 研究報告書 (Vol. 16) .
- 21. 水野時子、山田幸二 (2006). スプラウトの一般成分、脂肪酸組成、遊離アミノ酸組成について. 日本食生活学会誌, Vol.16 (4), 369-375
- 22. 渡辺慎一、松尾征徳、北崎一義、鮫島國親、澤井祐典、諸岡譲、篠崎正俊、田中健一郎、田中達也、河野智謙、吉田敏(2016). 人工光型植物工場の簡易栽培システムにおける木材パルプ培地でのカイワレダイコン(RapHanus sativus L.)の生育および一般生菌数. 日本植物環境工学, 28(1), 29–34.
- 23. Rui, L., Jianxiong, H., Haijie, L., & Lite, L (2011) . Application of electrolyzed functional water on producing mung bean sprouts. Food Control, 22 (8), 1311–1315.
- 24. Liu, R., He, X., Shi, J., Nirasawa, S., Tatsumi, E., Li, L., Liu, H. (2013). The effect of electrolyzed water on decontamination, germination and γ –aminobutyric acid accumulation of brown rice. Food Control, 33 (1), 1–5.
- 25. Li, L., Song, S., Nirasawa, S., Hung, Y.-C., Jiang, Z., Liu, H (2019). Slightly Acidic Electrolyzed Water Treatment Enhances the Main Bioactive PHytochemicals Content in Broccoli Sprouts via Changing Metabolism. Ournal of Agricultural and Food Chemistry, 67 (2), 606–614.

- 26. Li, L., Hao, J., Song, S., Nirasawa, S., Jiang, Z., Liu, H (2018). Effect of slightly acidic electrolyzed water on bioactive compounds and morphology of broccoli sprouts. Food Research International, 105, 102–109.
- 27. 農林水産省・環境省 (2014). 特定農薬を指定する件の一部を改正する件, 告示第2号
- 28. 厚生労働省 (2002). 食品添加物指定酸性電解水 (「次亜塩素酸水」) の要点, 省令第75 号・告示第212号.
- 29. 三枝貴代 (2016). コメにおける 4-アミノ酪酸 (GABA) 増量法の開発ならびにその利用, [筑波大学]. 博士論文.
- 30. 天井友加里、新田洋司、浅木直美、塩津文隆、小久保敏明、塚本心一郎 (2014). 茨城県 産良食味米「ふくまる」および「一番星」に認められた理化学的特性と 炊飯米の微細骨格 構造の特徴 1. 日本作物学会関東支部会報, 29, 34-35.
- 31. 久保田紀久枝、森光康次郎 編 (2011). 食品学一食品成分と機能性(第2版補訂). (株) 東京化学同人(東京), 3
- 32. Osawa, T (2009) . Cancer Prevention and Novel Food Development–From Designer Foods to Functional Foods–. Journal for the Integrated Study of Dietary Habits, 20 (1) , 11–16.
- 33. 熊谷武久、伊藤彰、瀬野公子、渡辺紀之 (2004). 幼若稲乾燥粉末の摂取が血清成分と便通改善に与える影響. 日本食品科学工学会誌,51(2),72-78.
- 34. 内藤秀樹 (1999). 水稲における種子伝染病性害虫防除の現状と種子無病化への試み、植物 防疫、53、439-443.
- 35. 黒田克利・冨川章・鈴木啓史・鈴村素弘 (2007). 1回当たり最大 80 kg の種もみを処理できる温湯消毒装置の開発. 植物防疫 61:192-196.

- 36. 田中文夫 (2008). クリーン農業. 植物防疫, 62, 250-254.
- 37. 濱田晃次、三田村芳樹、佐野直人、 山田哲也,、金勝 一樹(2011). 温湯消毒時における水稲品種「ひとめぼれ」の種子の高温耐性の解析. 日本作物学会紀事, 80(3), 354-359.
- 38. 内藤秀樹、根本文宏、山下亨、勝部和則、芦澤武人、丸山清明,有賀武、林長生,宮坂篤、園田亮一,藤晋一、古屋廣光 (2002). 水稲無病化種子 「玄米種子」による種子伝染性病害の防除効果. 日植病報, 68, 28–35.
- 39. 原田篤也 (1974). 微生物による生産と反応の特色について, 有機合成化学協会誌, 32 (4), 222-233.
- 40. 啓林館. 高校理科ユーザーの広場. 第4部 環境と植物の反応,第2章植物の反応と調節、第2節発芽の調節,http://www.keirinkan.com/(2020/11/13閲覧).
- 41. 福崎智司 (2009) .次亜塩素酸による洗浄・殺菌機構と細菌の損傷. 日本食品微生物学会雑誌, 26 (2), 76-80.
- 42. Liu, R., Zhang, D., He, X., Nirasawa, S., Tatsumi, E., Liu, H (2014). The relationship between antioxidant enzymes activity and mungbean sprouts growth during the germination of mungbean seeds treated by electrolyzed water. Plant Growth Regulation, 74 (1), 83–91.
- 43. 栗原金吉 (1972). ポリウレタンの応用. 日本ゴム協会誌, 45 (5), 529-535.
- 44. 草野都, 花井秀俊, 田母神繁, 内藤秀樹, 野間正名 (2001). もみ殻が有する植物生長促進物質に関する研究. 植物化学調節学会 研究発表記録集, 36, 115-116.
- 45. 小山真一(2015). 水稲生産性の向上と地域温暖化緩和を目的としたもみ殻くん炭の黒ぼく 土水田への還元利用 [筑波大学]. 博士論文.

- 46. 守田和弘(2017). 六条皮麦の搗精歩合と発芽処理が γ-アミノ酪酸産生と炊飯物性に及ぼす影響. 日本食品科学工学会誌, 64(11), 527-532.
- 47. 日本食品標準成分表(2018) 第 2 部 日本食品標準成分表 2015 年版(七訂)追補 2018 年 アミノ酸成分表編 第 1 章 説明. 文部科学省

 https://www.mext.go.jp/component/a_menu/science/detail/__icsFiles/afieldfile/2018/12/10/1411610_001.pdf (2020/11/13 閲覧).
- 48. 河村洋二郎(編)(1993). うま味. 味覚と食行動. 共立出版, 57-59.
- 49. 藤林真美、神谷智康、高垣欣也、森谷敏夫(2008). GABA 経口摂取による自律神経活動の活性化. 日本栄養・食料学会誌, 61(3), 129-133.
- 50. 吉田真一、原本正文、福田朋彦、水野英則、田中藍子、西村三恵、西平順(2015). 北海道産GABA富化米の最適製造条件の設定とヒトへの抗ストレス作用. 日本食品科学工学会誌,62(2),95-103.
- 51. 樋渡一之、成澤昭芳、保苅美佳、戸枝一喜(2010). 自然発症高血圧ラットにおける米糠発酵エキス配合飲料の血圧上昇抑制作用. 日本食品科学工学会誌, 57(1), 40-43.
- 52. 日本小児内分泌学会(2013). アルギニンの生長ホルモン促進作用. http://jspe.umin.jp/iframe/kenkai.html. (2020/11/13 閲覧).
- 53. Roberts, L. D., Boström, P., O'Sullivan, J. F., Schinzel, R. T., Lewis, G. D., Dejam, A., Lee, Y. K., Palma, M. J., Calhoun, S., Georgiadi, A., Chen, M. H., Ramachandran, V. S., Larson, M. G., Bouchard, C., Rankinen, T., Souza, A. L., Clish, C. B., Wang, T. J., Estall, J. L., ··· Gerszten, R. E (2014) . β–Aminoisobutyric acid induces browning of white fat and hepatic β–oxidation and is inversely correlated with cardiometabolic risk factors. Cell Metabolism, 19 (1) , 96–108.

- 54. 今関英雄 (2009). みんなのひろば、様々な場面で活躍するフェノール. (社) 日本植物整理学会. https://jspp.org/hiroba/q_and_a/detail.html?id=2105&target=number&key=2105 (2020/11/13 閲覧)
- 55. 柴坂三根夫、辻英夫(1994). イネ水中芽生えの酸素適応過程におけるミトコンドリアスペクトルの変化. 岡大資生研報, 2, 135–147.
- 56. 鈴木啓太郎、前川孝昭 (1999). 玄米の出芽制御の解析. 農業施設学会, 30 (1) ,1-10.
- 57. 鈴木啓太郎 (2019). 増強された栄養素を含有する穀物種子の製造方法. 特開 2019-187394.
- 58. Shelp, B. J., Bozzo, G. G., Trobacher, C. P., Zarei, A., Deyman, K. L., & Brikis, C. J (2012) . Hypothesis/review: Contribution of putrescine to 4–aminobutyrate (GABA) production in response to abiotic stress. Plant Science, 193–194, 130–135.
- 59. 森山信雄、篠崎隆、金山功、矢富伸治(2002). 新規機能性を付加した加工米の開発研究. 日本農芸化学会誌, 76 (7), 614-621.
- 60. He, D., Yang, P (2013) . Proteomics of rice seed germination. In Frontiers in Plant Science , 4 (246), 1–9.
- 61. Yao, S., Zheng, L., Zhao, S., Xiong, S (2006) . Effect of germination conditions on γ aminobutyric acid content of germinated brown rice. Nongye Gongcheng Xuebao/Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 22 (12) .
- 62. Kamjijam, B., Bednarz, H., Suwannaporn, P., Jom, K. N., & Niehaus, K (2020). Localization of amino acids in germinated rice grain: Gamma–aminobutyric acid and essential amino acids production approach. Journal of Cereal Science, 93, 102958.

- 63. Cáceres, P. J., Martínez-Villaluenga, C., Amigo, L., & Frias, J (2014). Maximising the pHytochemical content and antioxidant activity of Ecuadorian brown rice sprouts through optimal germination conditions. Food Chemistry, 152 (1), 407–414.
- 64. 大久長範、大能利久、森勝美 (2003). 発芽玄米と籾発芽玄米の γ-アミノ酪酸および遊離アミノ酸含量. 日本食品科学工学会誌, 50 (7), 316-318.
- 65. Ti, H., Zhang, R., Zhang, M., Li, Q., Wei, Z., Zhang, Y., Tang, X., Deng, Y., Liu, L., & Ma, Y. (2014) . Dynamic changes in the free and bound pHenolic compounds and antioxidant activity of brown rice at different germination stages. Food Chemistry, 161 (15), 337–344.
- 66. 岡本佳菜子、梁川 正 (2013). 鉢栽培における鉢と土壌温度に関する研究 キクの鉢栽培における鉢の材質と大きさが土壌温度に与える影響. 京都教育大学環境教育研究年報, 21, 91–100.
- 67. 笠原安夫、西克久(1964). プラスチックフィルムのマルチによる照度、温度土壌水分、土壌 pH の変化とレタスの生育および雑草防除との関係. 農学研究.
- 68. 大坪 研一、中村澄子(2011). 発芽種子およびその製造方法. 特開 2011-024472.
- 69. 三枝貴代、堀野俊郎、森隆(1996). γ-アミノ酪酸の製造法. 特開 1996- 280394.
- 70. 太田保夫 (1976). イネの生育と植物ホルモン. 化学と生物, 14 (11), 696-702
- 71. Mishra, N. P., Fatma, T., & Singhal, G. S (1995). Development of antioxidative defense system of wheat seedlings in response to high light. PHysiologia Plantarum, 95, 77–82.
- 72. Chen, W., Xu, Z., Liu, X., Yang, Y., Wang, Z., & Song, F (2011) . Effect of LED light source on the growth and quality of different lettuce varieties. Acta Botanica Boreali–Occidentalia Sinica, 31 (7), 1434–1440.

- 73. Ohashi–Kaneko, K., Takase, M., Kon, N., Fujiwara, K., & Kurata, K (2007). Effect of Light Quality on Growth and Vegetable Quality in Leaf Lettuce, Spinach and Komatsuna. Environment Control in Biology, 45 (3), 189–198.
- 74. Toledo, M. E. A., Ueda, Y., Imahori, Y., & Ayaki, M (2003) . L-ascorbic acid metabolism in spinach (Spinacia oleracea L.) during postharvest storage in light and dark. Postharvest Biology and Technology, 28 (1), 47–57.
- 75. Hao, J., Wu, T., Li, H., Wang, W., Liu, H (2016). Dual effects of slightly acidic electrolyzed water (SAEW) treatment on the accumulation of *γ* –aminobutyric acid (GABA) and rutin in germinated buckwheat. Food Chemistry, 201 (15), 87–93.
- 76. 厚生労働省(1979). 弁当及びそうざいの衛生規範について
 https://www.mhlw.go.jp/web/t_doc?dataId=00ta5751&dataType=1&pageNo=1
 (2020/11/13 閲覧)
- 77. 佐々木泰弘、 河野元信 (2010) . ギャバ (Gaba) の効能と有効摂取量に関する文献的考察. 美味技術研究会誌, 15 (15), 32-37.
- 78. 山元一弘 (2006) .: ギャバの機能特性と健康志向食品への展開. 食品加工技術, 26 (1) , 34-39.
- 79. 松崎昭夫、高野哲夫、坂本晴一、久保山勉(1992). 食味と穀粒成分および炊飯米のアミノ酸との関係. 日本作物学会, 61(4), 561-567.
- 80. 農林水産省 (2012). 特集 1 食の未来を支える食料自給率(4). Aff(あふ). https://www.maff.go.jp/j/pr/aff/1205/spe1_04.html(2020/11/13 閲覧).
- 81. 大坪 研一(2002). 新形質米の特性とその利用. 日本調理科学会誌, 7(9), 27-44.
- 82. (社) 高機能玄米協会 (2019). 玄米白書 2019, 日本食糧新聞社.

http://www.mfbr.org/PDF/genmaishokuhakusho2019.pdf(2020/11/13 閲覧).

- 83. 阿部利徳、竹屋佳奈子(2005). エダマメ中の γ-アミノ酪酸(GABA)含量の差異. 日本食品科学工学会誌, 52(11), 545-549.
- 84. 金内誠(2015). 塩ストレス条件下で発芽させた豆類・穀類の高機能性物質生産について.(財)ソルト・サイエンス研究財団,291-300.

謝辞

筑波大学生命環境系助教 粉川美踏博士には、研究の計画の段階から論文執筆まで終始適切な助言を賜りました。常に笑顔で丁寧に対応していただけたお陰で、忌憚なく質問させていただくことができました。本研究の目的が達成できたことは、ひとえに指導教官である粉川先生のお力添えによるものです。心より感謝いたしております。

同生命環境系教授 北村 豊博士には、健康に貢献できる玄米をいかに日常に取り入れてもらうかという私の人生のテーマに対して、研究の機会をいただきました。先生との出会いがなければ、玄米をテーマとした本研究内容で無事博士課程を修了することができなかったと思います。このような幸運な機会を下さった北村先生に心より感謝の意を表します。

同生命環境系教授 宮崎均博士、同生命環境系教授 納口るり子博士には、本論文の取りまとめに当たり丁寧かつ貴重な示唆をいただき、ご校閲の労を取っていただきました。謹んで御礼申し上げます。

本研究にあたり当大学研究基盤総合センター分析部門の廣瀬玉紀様にはアミノ酸分析に関してご協力いただき、(株)田源 田辺 寛様および森永乳業(株)濱谷希人様には資材を提供していただきました。ここに感謝いたします。

常に研究に前向きな当研究室のメンバーには刺激的な議論を頂き、研究を進めていく上で大変役立ちました。穏やかで仲の良い研究室の雰囲気には、精神的にも支えられました。皆さん、ありがとうございました。

この3年間、家族や友人、私が主宰する料理教室の生徒さん方など近しい人からは、常に励ましの言葉をかけていただきました。その応援のおかげで何とか本研究をやり遂げることができました。ありがとうございました。

重ねてお世話になったすべての皆様にお礼申し上げます。

この研究を人々の健康に役立たせていくことが皆さんへの一番のお礼になると思っています。

[2021年4月]